

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
(Н И У « Б е л Г У »)

ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

КАФЕДРА БИОЛОГИИ

**ИССЛЕДОВАНИЕ В ОПЫТАХ *IN VITRO* ВОЗДЕЙСТВИЯ
КАРБОНАТА И ОКСИДА МАГНИЯ НА ПОПУЛЯЦИЮ
ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА**

Выпускная квалификационная работа
обучающегося по направлению подготовки 06.03.01 Биология
очной формы обучения, группы 07001418
Лемешкиной Елены Николаевны

Научный руководитель
к.б.н., доцент
Надеждин С.В.

БЕЛГОРОД 2018

Оглавление

Введение.....	3
Глава 1. Обзор литературы по теме исследования.....	4
1.1 Красный костный мозг.....	4
1.2. Гомеостаз магния в организме человека и на уровне клетки.....	9
1.3. Природное сырье как источник магния.....	17
1.4. Биологически активные пищевые добавки и лекарственные препараты для коррекции магнией дефицитных состояний.....	25
Глава 2. Материалы и методы исследования.....	34
Глава 3. Полученные результаты и их обсуждение.....	37
Выводы.....	58
Список использованных источников.....	59

Введение

Недостаток магния является одним из предрасполагающих факторов развития заболеваний сердечно-сосудистой системы, гипертонической болезни, инсульта, болезни Альцгеймера, повышает риск онкологических заболеваний. Сегодня устранить дефицит магния в организме можно двумя способами: первый – пероральное введение физиологических доз ионов магния, второй пероральное или внутривенное введение фармакологической дозы магния.

Гомеостаз магния в организме является необходимым условием здоровья человека. Магний участвует в регуляции функций многих клеточных ферментов и транспортеров, обеспечивающих производство энергии, процессы роста и деления клеток. Однако плазматическая мембрана клеток непроницаема для Mg^{2+} , а экструзию Mg^{2+} против электрохимического градиента обеспечивают энергозависимые транспортные системы.

В связи с этим актуальной задачей является поиск природных химических соединений, в состав которых входит биодоступный и биоактивный магний, что позволит разработать эффективные биологически активные пищевые добавки для коррекции магниевых дефицитных состояний.

Цель работы – провести оценку биодоступности и цитотоксичности карбоната магния и оксида магния в опытах *in vitro*.

Задачи исследования:

- 1) определить биодоступность карбоната магния и оксида магния;
- 2) выявить влияние карбоната и оксида магния на количество живых клеток;
- 3) установить биоактивность карбоната магния и оксида магния.

Выпускная квалификационная работа изложена на 63 страницах. Она состоит из оглавления (содержания), введения, трех основных разделов, заключения. Список использованных источников насчитывает 52 наименования. В работе используются 47 рисунков.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Красный костный мозг

Кровь – это гемопоэтическая система, которая состоит из многих типов клеток со специализированными функциями (рис. 1).

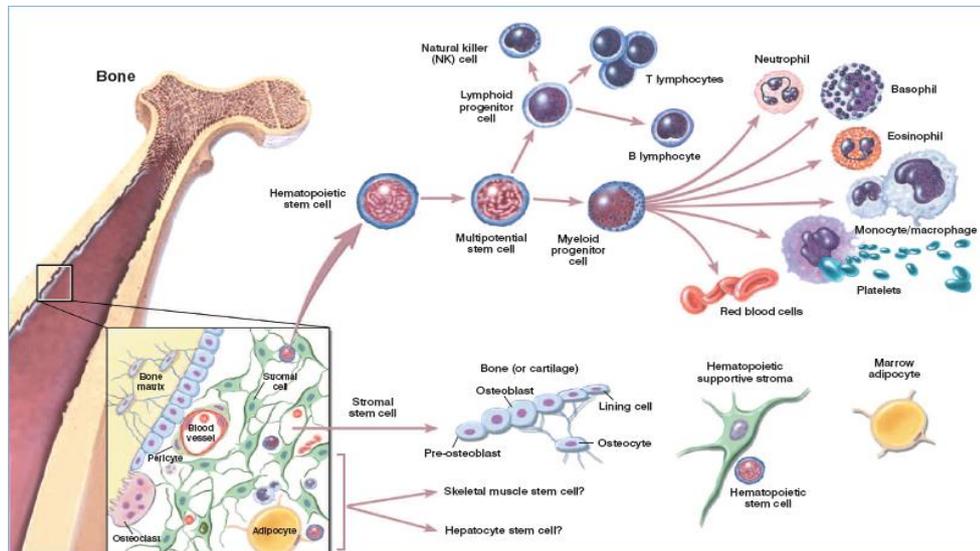


Рис. 1. Гематопоэтическая и стромальная клеточная дифференцировка

Эритроциты – переносят кислород в ткани. Тромбоциты – (полученные из мегакариоцитов) помогают предотвратить кровотечение. Гранулоциты (нейтрофилы, базофилы, эозинофилы) и макрофаги (в совокупности известные, как миелоидные клетки) борются с инфекциями бактерий, грибов и других паразитов, таких как нематоды. Некоторые из этих клеток, также участвуют в ремоделировании тканей и костей, удалении мертвых клеток. В-лимфоциты продуцируют антитела, Т-лимфоциты могут непосредственно убивать или вызывать воспаление, признанными чужеродными по отношению к организму [Schwoch, Passow 1973].

Клетки крови недолговечны и нуждаются в пополнении непрерывно; в среднем человеку требуется примерно 100 миллиардов новых гемопоэтических клеток каждый день.

Костный мозг – представляет собой васкуляризированную, желатиновую ткань, содержащую гемопоэтические (HSC) и мезенхимальные стволо-

вые клетки (MSC) [Domen, Weissman, 1999]. Эти клетки генерируют клетки-предшественники, которые дифференцируются в различные типы клеток, включая остециты (костные клетки), адипоциты (жировые клетки), миоциты (мышечные клетки), эритроциты (эритроциты) и лейкоциты [Ploemacher, 1997] Связанные с заболеваниями в популяциях клеток-предшественников костного мозга, они дают представление о причинах аутоиммунных заболеваний.

Красный костный мозг (рис. 2) – у взрослых, ограничен в основном скелетной системой костей черепа, таза, позвоночника, ребер, грудины, лопатки, и вблизи точки крепления костей рук и ног. Мало того, что красный мозг продуцирует клетки крови, но и также помогает удалять старые клетки из кровообращения. Красный костный мозг содержит гемопоэтические стволовые клетки, которые продуцируют два других типа стволовых клеток: миелоидные стволовые клетки и лимфоидные стволовые клетки. Эти клетки развиваются в эритроциты, лейкоциты или тромбоциты [Morrison et al., 1995].

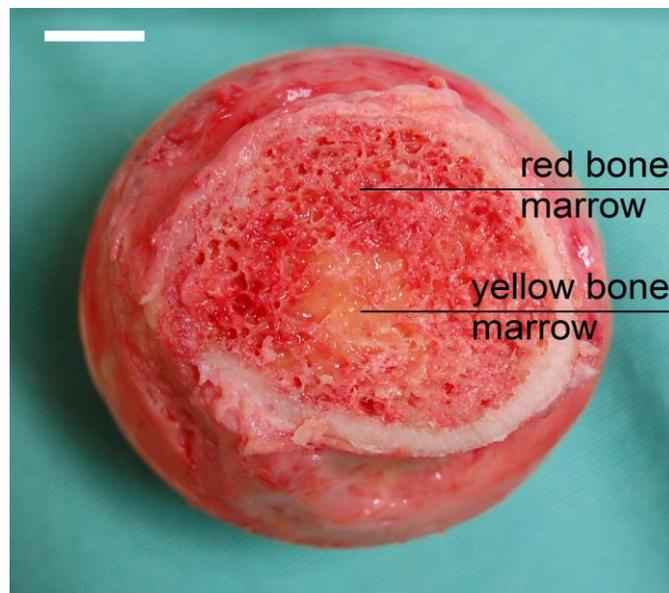


Рис. 2. Срез головки бедренной кости, на котором видны наружный покров головки бедренной кости, красный костный мозг и желтый мозг

Миелоидные стволовые клетки – превращаются в красные кровяные клетки, тромбоциты, тучные клетки или миелобластные клетки.

Миелобластные клетки – развиваются из CFU-GM леток (миеломонобластов), а те, в свою очередь, из CFU-GEMM (называемых промиелобластами или общими миелоидными предшественниками). Следующая стадия дифференцировки – промиелоцит [Morrison et al., 1995].

Красные кровяные клетки – также называемые эритроцитами, переносят кислород в клетки организма и переносят углекислый газ в легкие.

Тромбоциты – эти клетки развиваются из мегакариоцитов (огромных клеток), которые разбиваются на фрагменты, образуя тромбоциты. Они играют важную роль в процессе свертывания крови и заживления тканей.

Миелобластные гранулоциты (лейкоциты) – развиваются из клеток миелобластов и включают в себя нейтрофилы, эозинофилы и базофилы. Эти иммунные клетки защищают организм от инородных захватчиков (бактерий, вирусов и других патогенных микробов), становятся активными во время аллергических реакций [Wright et al., 2001].

Моноциты – эти крупные белые клетки крови, мигрируют из крови в ткани и развиваются в макрофаги и дендритные клетки. Макрофаги удаляют посторонние вещества, мертвые или поврежденные клетки, раковые клетки из организма фагоцитозом. Дендритные клетки помогают в развитии антигенного иммунитета, представляя антигенную информацию для лимфоцитов [Dexter et al., 1977]. Они инициируют первичные иммунные реакции и обычно встречаются в коже, дыхательных путях, желудочно-кишечном тракте.

Тучные клетки – одноядерные лейкоциты, развиваются независимо от клеток миелобластов. Они обнаруживаются во всех тканях организма, особенно в коже и в кишечнике. Тучные клетки опосредуют иммунные реакции, выделяя химические вещества, такие как гистамин, хранящиеся в гранулах. Они помогают в заживлении ран, регуляции сосудистой проницаемости и связаны с аллергическими заболеваниями (астма, экзема, сенная лихорадка и т. д.) [Schwoch, Passow, 1973].

Лимфоидные стволовые клетки – становятся лимфобластными клетками, которые продуцируют другие типы лейкоцитов, называемых лимфоцитами,

ми. Лимфоциты включают естественные киллерные клетки, В-лимфоциты и Т-лимфоциты.

Природные клетки-убийцы – эти цитотоксические клетки содержат ферменты, которые вызывают апоптоз (клеточное саморазрушение), в инфицированных и больных клетках. Они являются компонентами врожденного иммунного ответа организма, защищающего от патогенов и развития опухолей [Moffett-King, 2002].

В-клеточные лимфоциты – эти клетки важны для адаптивного иммунитета и долговременной защиты от патогенов. Они распознают молекулярные сигналы от патогенов и продуцируют антитела против специфических антигенов.

Т-клеточные лимфоциты – эти клетки активны в клеточно-опосредованном иммунитете. Они помогают выявлять и уничтожить поврежденные, раковые и инфицированные клетки [Gandy et al, 1999].

Заболевания костного мозга характеризуются сокращением производства зрелых эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов в костном мозге.

Существует несколько типов заболеваний костного мозга: от анемии до определенных форм рака. Во всех этих заболеваниях поражается производство различных клеток крови.

Три типа распространенных заболеваний костного мозга:

- 1) лейкемия;
- 2) апластическая анемия;
- 3) миелодиспластический синдром [Reya et al., 2001].

Симптомы болезни костного мозга: Клинические особенности различных типов заболеваний костного мозга могут зависеть от тяжести заболевания. Во всех этих случаях наблюдается несколько следующих симптомов [Haïoun et al., 1997].

1. Боль в костях: Сильная боль в костях и в суставах характерны для заболевания костного мозга. Данные симптомы обычно присутствует в условиях с уменьшенным образованием красных кровяных телец.

2. Большинство пациентов переносят анемию, как один из симптомов. Количество красных клеток резко уменьшается. В результате это влияет на переносимость кислорода в крови. Пациент чувствует себя истощенным, запыхавшимся, усталым даже во время отдыха. Из-за анемии пациент бледнеет. Может быть кровотечение во время приема пищи или синяк при малейшей травме.

3. Опухоль и увеличение различных внутренних органов, распространены из-за нарушений в костном мозге. Часто селезенка, печень увеличены и ощутимы. Пациент представляет собой рецидивирующую инфекцию из-за набухания слизистой оболочки. У многих пациентов мужского пола наблюдается опухоль яичка.

4. Лихорадка и инфекции верхних дыхательных путей.

Причины заболеваний костного мозга. Есть несколько факторов, которые могут привести к заболеванию костного мозга. Состояние может развиваться в самом костном мозге или находиться за пределами костного мозга. Инфекции могут вторгаться в него. Например, рак других органов может вызвать метастазы в костном мозге. В других случаях это может быть рак костей. Оба этих состояния могут привести к анемии, когда красные кровяные клетки разрушаются. Апластическая анемия может привести к дисфункции костного мозга.

Ионизирующее излучение, воздействие химических веществ и лекарств, таких как: бензол, толуол и т. д., вирусные заболевания – могут вызвать апластическую анемию.

Миелодиспластический синдром – еще одно заболевание, отвечающее за подавление клеток крови в костном мозге. Некоторые наследственные заболевания, такие как: синдром Фанкони, ретикулярный дисгенез – могут привести к разрушению костного мозга [Child et al., 2008].

Существует несколько вариантов лечения болезней костного мозга. Целью лечения является восстановление нормальной функции костного моз-

га [Moffett-King, 2002]. Для этого пациент нуждается в хорошей поддержке. За этим должна последовать окончательная терапия.

1. Переливание эритроцитов приводит к повышению уровня гемоглобина и улучшению симптомов.
2. Необходимо принять меры для предотвращения вирусной инфекции. Пациент должен избегать многолюдных мест и мыть руки водой с мылом перед едой.
3. Трансфузию тромбоцитов можно рассматривать в случае уменьшения количества тромбоцитов или увеличение кровотечения.
4. Иммунодепрессанты являются ценными при лечении апластической анемии. Это помогает в восстановлении костного мозга, если пациент не может выполнить трансплантацию костного мозга.
5. При пересадке костного мозга трансплантация костного мозга идеальна, если пациенту менее 20 лет. Это выгодно там, где имеется совместимый с HLA донор.
6. Некоторые травы, такие как куркума, зеленый чай, люцерна, помогают в восстановлении клеток костного мозга при анемии, лейкемии и других формах заболеваний костного мозга [Harousseau et al., 1997].

Прогноз при анемиях положительный минимум у половины больных, у них случается ремиссия или они полностью выздоравливают. Шанс на выздоровление больше у детей и молодых людей. При диагностировании рака костного мозга для больных с первой и второй стадией заболевания, шансы достаточно хорошие, выздоровление возможно с третьей и четвертой стадией, но к сожалению, не оставляют надежды на полное выздоровление.

1.2. Гомеостаз магния в организме человека и на уровне клетки

Человеческий организм состоит из триллионов клеток, которые работают вместе для поддержания всего организма. Клетки могут выполнять разные функции, они очень похожи в своих метаболических потребностях. Под-

держание постоянной внутренней среды со всем необходимым для выживания клеток (кислород, глюкоза, минеральные ионы, и т. д.) необходимо для благополучия отдельных клеток и в целом всего организма. Различные процессы, с помощью которых организм регулирует свою внутреннюю среду, в совокупности называются гомеостазом [Дубынин и др., 2010].

Гомеостаз в общем смысле относится к стабильному равновесию. Это одна из попыток организма поддерживать постоянную внутреннюю среду. Поддержание стабильной внутренней среды требует постоянного контроля и корректировки по мере изменения условий. Эта регулировка физиологических систем в организме называется гомеостатической регуляцией.

Гомеостатическая регуляция включает три части механизмов:

- 1) рецептор;
- 2) центр управления;
- 3) эффектор.

Рецептор получает информацию о том, что что-то в окружающей среде меняется. Центр управления или центр интеграции, принимают и обрабатывают информацию от рецептора. И, наконец, эффектор отвечает командам центра управления, либо противодействием или же усиливающим стимулом.

Это постоянный процесс, который работает над восстановлением и поддержанием гомеостаза. Например, при регулировании температуры тела в коже присутствуют температурные рецепторы, которые передают информацию в мозг, он является центром управления, а эффектор – наши кровеносные сосуды и потовые железы в коже.

Поскольку внутренняя и внешняя среда тела постоянно меняется, корректировки должны производиться непрерывно. Чтобы оставаться на заданной точке или вблизи нее, гомеостаз можно рассматривать как динамическое равновесие.

Гомеостаз поддерживает окружающую среду тела под контролем и сохраняет условия, чтобы клетки могли жить и функционировать. Без правильных и оптимальных условий для организма определенные процессы (осмос),

и белки (ферменты) не будут функционировать должным образом [Ломакин, 1990].

Все организмы нуждаются в определенном контроле над гомеостазом, чтобы обеспечить возможность выжить. Поскольку многие метаболические реакции, происходящие внутри организма, то зависят от ферментов или даже от других организмов, таких как прокариотические бактерии, им крайне важно обеспечить оптимальные условия, необходимые для функционирования ферментов [Харди, 1986]. Таким образом, гомеостаз является тенденцией организмов регулировать и поддерживать относительную внутреннюю стабильность и включает, среди прочих процессов, поддержание постоянной температуры тела, концентрации глюкозы, рН, осмотического давления, уровня кислорода и концентрации ионов. Способность поддерживать постоянную внутреннюю среду, с которой мы наиболее знакомы – это постоянная температура тела в гомеотермических организмах.

Механизмы, регулирующие гомеостаз, действуют по механизмам обратной связи. Механизмы отрицательной и положительной обратной связи, действуют в живых организмах. Это поддерживает постоянное, устойчивое состояние и поэтому представляет собой гомеостаз [Чароян, 1972]. С другой стороны, положительная обратная связь влияет на изменение переменной еще больше в том направлении, в котором она меняется. Таким образом, положительная обратная связь не является гомеостатическим механизмом.

Температурный контроль является примером гомеостатического механизма с отрицательной обратной связью. Область мозга, называемая гипоталамусом, контролирует температуру человеческого тела. Отклонение от нормальной температуры, вызывает ответ гипоталамуса. Температура может быть снижена путем активации желез, способных к потоотделению, или поднятых сигнальными мышцами, которые вызывают дрожь для получения тепла [Чароян, 1972].

Гомеостатические механизмы являются фундаментальной характеристикой живых существ. Без этих механизмов рецепторы тела, которым необ-

ходимо поддерживать в устойчивых состояниях, такие как температура, кислотность, уровень гормонов, концентрация газов, углекислый газ, концентрации питательных веществ, станут настолько неуравновешенными, что угрожают жизни организма. В здоровом теле гомеостатические механизмы действуют автоматически на разных уровнях: молекулярной, клеточной и на уровне всего организма [Харди, 1986].

На молекулярном уровне активность, контролируемая одним геном, может регулироваться под контролем другого гена. На клеточном уровне, хорошо изученный гомеостатический механизм, представляет собой контактное торможение, при котором клетки перестают делиться, друг с другом [Талако, 1977].

На всех уровнях организма, гомеостатические механизмы является жизненно важной частью при рождении ребенка. Во время родов сокращение матки вызывает высвобождение гормона, называемого окситоцином из гипоталамуса. Гормон увеличивает частоту сокращения, что, в свою очередь, стимулирует выделение большего количества окситоцина. Этот увеличивающий цикл сокращения приводит к рождению ребенка. После рождения окситоцин действует так, чтобы уменьшить расширенную матку и минимизировать кровотечение, тем самым поддерживая объем крови матери [Аметов, 2016].

Два гормона отвечают за контроль концентрации глюкозы в крови. Это инсулин и глюкагон.

Рецепторы поджелудочной железы отвечают за мониторинг уровня глюкозы в крови, поскольку клетке необходимо дыхание.

Аномальный уровень магния – гипوماгнемия, может приводить к нарушениям почти целой системе организма и вызывает потенциально фатальные осложнения. Магний является вторым по величине внутриклеточным катионом. Он играет фундаментальную роль во многих функциях клетки, включая передачу энергии, хранение и использование белков, углеводов, поддержание нормальной функции клеточной мембраны, регуляция секреции

паратиреоидного гормона (ПТГ). Системно, магний снижает кровяное давление и изменяет периферическое сосудистое сопротивление.

Почти все ферментативные процессы, использующие фосфор в качестве источника энергии, требуют активации магния. Магний участвует почти во всех аспектах биохимического метаболизма (синтез ДНК и белка, гликолиз, окислительное фосфорилирование). Почти все ферменты, участвующие в реакциях фосфора (аденозинтрифосфатаза [АТФаза]), требуют участия магния. Магний служит в качестве молекулярного стабилизатора РНК, ДНК, рибосом. Поскольку магний связан с аденозинтрифосфатом (АТФ) внутри клетки, сдвиги внутриклеточной концентрации магния могут помочь регулировать клеточную биоэнергетику [Талако, 1977].

Ионы магния также могут мешать высвобождению катехоламинов из мозгового вещества надпочечников. Магний был предложен, как эндогенный эндокринный модулятор катехоламинового компонента реакции, физиологического стресса.

Гомеостаз магния.Общее содержание магния в организме у взрослого человека составляет 25 г или 1000 ммоль. Приблизительно 60% магния в теле человека, присутствует в костях, 20% в мышцах, а еще 20% в мягких тканях и печени. Приблизительно 99% всего тела магния является внутриклеточным или костно-осажденным [Москалев, 1985], и только 1% присутствует во внеклеточном пространстве. 70% плазменного магния ионизируют или образуют комплексы для фильтруемых ионов (например, оксалата, фосфата, цитрата) и доступны для фильтрации клубочков, а 20% связаны с белками [Плавченко, 2000].

Основным контролирующим факторам в гомеостазе магния является абсорбция желудочно-кишечного тракта и почечная экскреция. Магний присутствует в зеленых овощах, злаках, зернах, орехах, бобовых растениях и в шоколаде. Овощи, фрукты, мясо и рыба имеют промежуточные значения. Пищевая переработка и приготовление пищи могут уменьшить содержание магния.

Концентрация плазменного магния поддерживается в узких пределах. Внеклеточный магний находится в равновесии с таковым в костях и мягких тканях (например, в почках и кишечнике). В отличие от других ионов магний обрабатывается в двух основных аспектах: кости, главный резервуар магния, происходит обмен магния с циркулирующим магнием во внеклеточном пространстве [Москалев, 1985]. Эта неспособность создать магниевый запас говорит о том, что в состояниях отрицательного баланса магния, начальные потери происходят из внеклеточного пространства, равновесие с магнием не начинается в течение нескольких недель.

Магний всасывается в тонком кишечнике, через транспортную систему, пассивную диффузию, и объемный ток воды. Точный механизм, с помощью которого происходят изменения поглощения магния, еще не определен. Предположительно, поглощается только ионизированный магний.

В кишечнике всасывание кальция и магния влияет на абсорбцию друг друга. Высокое потребление кальция может уменьшить всасывание магния, а потребление магния с низким содержанием может увеличить всасывание кальция сыворотке [Quamme, De Rouffignac, 2000a]. Глюкокортикоиды, могут уменьшать абсорбцию кальция и увеличивать перенос магния.

Главным регулятором магниевых гомеостаза являются почки. Снижение поступления магния в организм у пациентов с нормальной почечной функцией приводит к уменьшению экскреции магния почками [Shils, 1969], тогда как увеличение поступления магния с пищей приводит к увеличению экскреции магния с мочой без изменения его концентрации в сыворотке [Quamme, De Rouffignac, 2000a], однако имеются значительные внутригрупповые, суточные и циркадные изменения этого показателя [Paunie, 1968].

Большинство магния не реабсорбируется в проксимальной свернутой трубке. Толстая восходящая часть петли Генле [Quamme, De Rouffignac, 2000b] является основным местом реабсорбции 60–70%. Дистальный каналец возвращает лишь 15–25% отфильтрованного магния, а дистальная свернутая трубочка – еще 5–10% [Quamme, De Rouffignac, 2000a].

Наследственные нарушения гомеостаза магния. Гипомагниезия является общей у всех госпитализированных пациентов, часто сопровождается приобретенным расстройством, вызванным недостаточным потреблением Mg или ускоренной потерей его в моче или кишечнике. Приобретенная почечная недостаточность обычно бывает вызвана лекарственной терапией (например, диуретиками, аминогликозидами, иммуносупрессивными агентами), алкоголем и осмотическим диурезом. Гипомагниезия также недавно была описана, как частый, а иногда и серьезный побочный эффект терапии цетуксимабом, моноклональное антитело выступает против рецептора, эпидермального фактора роста, используемого при лечении колоректального рака [Пак, 2007].

Семейная гипомагниемия со вторичной гипокальциемией является редким аутосомно-рецессивным расстройством, которое проявляется в новорожденный период и характеризуется очень низким содержанием Mg^{2+} в сыворотке (0,2 ммоль/л) [Raunier et al., 1968].

Гипокальциемия возникает, как еще одна из характерных особенностей этого расстройства и является вторичным следствием устойчивости паращитовидной железы к паратиреоидному гормону (ПТГ) в результате хронической тяжелой гипомагниемии [Anast et al., 1972]. Болезнь обычно проявляется в первые месяцы жизни с генерализованными судорогами или признаками повышенной нервно-мышечной возбудимости, такими как мышечные спазмы или тетания [Satur et al., 1995].

Без лечения болезнь может быть фатальной или может привести к тяжелым неврологическим повреждениям при введении магния, обычно через внутривенный путь, с последующей пожизненной обработкой высокодозным магнием, обеспечивает облегчение клинических симптомов и нормализацию метаболизма кальция [Shalev et al., 1998]. Напротив, уровни магния в сыворотке обычно не достигают нормальных значений при пероральной заместительной терапии и остаются в субнормальном диапазоне (0,5–0,6 ммоль/л).

Семейная гипомагниемия со вторичной гипокальциемией вызвана мутациями в гене TRPM6, который кодирует белок TRPM6 [Groenestege et al.,

2007]. Этот белок относится к группе, связанной с меластатином. Подробные электрофизиологические анализы и исследования экспрессии показали, что TRPM6 ограничивает Mg^{2+} проницаемый канал, который специфически локализуется на апикальной мембране Mg^{2+} реабсорбции канальцев в почках и границы мембраны Mg^{2+} клеток в тонком кишечнике [Москалев, 1985].

Предполагается, что выраженная гипомагниемия ведет к нарушению синтеза или высвобождения паратиреоидного гормона (ПТГ). С другой стороны, в развитии гипокальциемии может играть определенную роль устойчивость органов-мишеней к ПТГ.

Изолированная аутосомно-рецессивная гипомагниемия. Недавно был идентифицирован ген болезни в очень редкой форме первичной гипомагниемии, называемой изолированной аутосомно-рецессивной почечной гипомагниемией. Эта болезнь была идентифицирована 20 лет назад у двух голландских сестер от родственников родителей, которые проявляли психомоторную задержку и эпилептические припадки в детстве и будучи взрослыми, умеренную умственную отсталость [Geven et al., 1987]. Обе пострадавшие сестры имели очень низкие уровни Mg^{2+} в сыворотке, в то время как их экскреция Mg^{2+} в моче была в нормальном диапазоне.

Помимо гипомагниемии, никаких других аномалий не выявлено, и, в частности, не было нарушений в экскреции кальция в моче. Ген, отвечающий за данное заболевание, еще не идентифицирован. Его продуктом может оказаться белок, обеспечивающий функцию магниевого канала не на базальной стороне клеток нефрона, как g -субъединица Na^+ , K^+ -АТФазы, а на апикальной стороне. Через этот канал магний проникает в клетку, а посредством каналов на базальной стороне входит в интерстиций [Groenestege et al., 2007].

Синдром Гительмана – представляет собой аутосомно-рецессивную солейсодержащую почечную тубулопатию, которая характеризуется гипомагниемией, гипокальциурией и вторичным альдостеронизмом, который отвечает за гипокалиемию и метаболический алкалоз [Simon et al., 1996].

Пациенты с данным синдромом обычно находятся в возрасте старше 6 лет, и во многих случаях диагноз можно узнать только в совершеннолетнем возрасте. Большинство пациентов страдают от тетании, особенно во время периодов лихорадки или, когда магний выводится через рвоту или диарею [Raunier et al., 1968].

Некоторые пациенты испытывают усталость настолько сильную, что это мешает повседневной деятельности. Тяжесть усталости у больных не полностью связана со степенью гипокалиемии.

В отличие от синдрома Барттера, который представляет собой генетически отличающееся и клинически более тяжелое расстройство, которое разделяет гипокалиемический метаболический алкалоз с синдромом Гительмана [Loffing et al., 1998], полиурия обычно отсутствует или только умеренная. Многие взрослые больные страдают хондрокальцинозом, который, как предполагается, обусловлен хронической гипомагниемией.

Диагноз синдрома Гительмана основан на клинических симптомах и биохимических аномалиях [Nijenhuis et al., 2005]. Наиболее типичными биохимическими нарушениями у пациентов с данным заболеванием являются гипокалиемия, гипомагниемия и гипокальциурия.

По сравнению с синдромом Барттера концентрация калия в сыворотке сравнительно низкая ($2,7 \pm 0,4$ ммоль/л). Концентрация магния в сыворотке низкая (менее 0,65 ммоль/л). У небольшого числа пациентов можно легко поддерживать концентрацию магния в нормальном диапазоне на ранней стадии, что может привести к ложному диагнозу синдрома Барттера [Shils, 1969].

1.3 Природное сырье как источник магния

Магний – является восьмым наиболее распространенным химическим элементом в земной коре, составляющим около 2 % земной коры по весу. Это элемент второй группы, третьего периода периодической системы химиче-

ских элементов Д. И. Менделеева. Является третьим элементом, растворенным в морской воде, серебристо-белого цвета (рис. 3), он классифицируется как щелочноземельный металл и не встречается в природе как свободный металл [Аарон-Маор, 1998].



Рис. 3. Самородный магний

Ресурсы, из которых магний может быть извлечен, варьируются от больших до практически неограниченных и широко распространённых. Ресурсы доломитовых и магниевых минералов огромны. Магний содержащие породы по оценкам, составляют ресурс в миллиардах тонн, а магний может быть получен из морской воды во многих местах, вдоль береговых линий мира.

Магний может создавать антикоррозийную пленку при воздействии чистой атмосферы и пресной воды. Однако пленка разрушается в присутствии хлоридов, сульфатов. Он быстро подвергается воздействию минеральных кислот, за исключением хромовых и плавиковых кислот. Однако он устойчив к разбавленным щелочам, алифатическим и ароматическим углеводородам, конкретным спиртам и сухим бромовым, хлорным и фторсодержащим газам [Бетехтин, 2011].

Анодирование магния улучшает его коррозионную стойкость.

Магний реагирует с кислородом. Тонко измельченный продукт, легко воспламеняется при нагревании на воздухе и горит ослепительно ярким белым пламенем.

Магний в металлической форме используется как:

1. легирующий элемент из алюминия, цинка, свинца и других цветных сплавов;
2. катодная защита других металлов от коррозии;
3. элемент для изготовления фонарей, фоторешеток и пиротехники (в том числе зажигательных бомб);
4. в качестве восстановителя для производства чистого урана из его соли;
5. строительный материал;
6. материал, используемый для изготовления, автозапчастей, аэрокосмической технике, электроинструментах, спортивных товарах, приспособлениях и погрузочно-разгрузочном оборудовании;

Магниевые соединения:

1. соединения магния, прежде всего оксид магния, в основном используются в качестве огнеупорных материалов в печных накладках для производства железа, стали, цветных металлов, стекла и цемента;
2. гидроксид магния или молоко магнезии используют в качестве слабительного и антацидного; его хлорид и цитрат используются в качестве пероральных добавок магния; и его сульфат используется для различных целей в медицине;
3. карбонат магния ($MgCO_3$) используется для изготовления кирпичей и напольных покрытий, огнеупорных материалов и огнегасящих составов. Его порошок используется гимнастами и тяжелоатлетами для улучшения сцепления с такими предметами, как подъемная балка;
4. стеарат магния представляет собой слегка воспламеняющийся белый порошок со смазывающими свойствами. Фармацевтическая промышленность использует его при изготовлении таблеток, чтобы предотвратить приклеивание таблеток к оборудованию во время процесса сжатия таблетки;

5. учитывая, что магний (в ионной форме) необходим для живых организмов, соли магния являются добавками в пищевых продуктах, удобрениях и тканевых культуральных средах [Иванов и др., 1973].

В 1695 году из минеральной воды Эпсомского источника в Англии выделили соль, обладавшую горьким вкусом и слабительным действием.

Минерал эпсомит имеет состав $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. Латинское название элемента происходит от названия древнего города Магнезия в Малой Азии, в окрестностях которого имеются залежи минерала магнезита [Бетехтин, 2011].

Впервые был выделен в чистом виде сэром Хемфри Дэви в 1808 году. Магнезит является одним из распространённых минералов карбоната магния ($MgCO_3$). В природе встречается в виде соединений (силикаты, карбонаты и др.). Наиболее важными являются: магнезит $MgCO_3$, доломит $MgCO_3 \cdot CaCO_3$, карналлит $MgCl_2 \cdot KCl \cdot 6H_2O$ [Ryan, Barbour, 1998].

Магнезит – является одним из распространённых минералов карбоната магния ($MgCO_3$) (рис. 4).



Рис. 4. Минерал магнезит

В природе встречается в виде соединений в состав, которых входят и другие химические соединения (силикаты, карбонаты и др.). Наиболее важными являются: магнезит $MgCO_3$, доломит $MgCO_3 \cdot CaCO_3$, карналлит $MgCl_2 \cdot KCl \cdot 6H_2O$ [Ryan, Barbour, 1998].

Магнезит может быть образован с помощью талька карбоната метасоматоза из перидотита и других ультраосновных пород. Магнезит образуется

путем карбонизации оливина в присутствии воды и двуокси углерода и благоприятствует при умеренных температурах и давлениях, характерных для зеленосланцев [Аарон-Маор, 1998]. Магнезит, также может быть образован путем карбонизации магнезиального серпентина (лизардит).

Форстерит – магнезиальные оливиновые композиции способствуют получению магнезита из перидотита. Фаялитовый (богатый железом) оливин способствует производству магнетит-магнезито-кремнеземных композиций [Белов, 1976].

Магнезит также может образовываться из метасоматизма в скарновых отложениях [Годовиков, 1979], в доломитовых известняках, связанных с волластонитом, периклазой и тальком.

Одним из самых больших мест скопления магнезита является самосадочные озера. Магнезит образуется в гидротермальным путем. Здесь можно отметить большие скопления кристаллически – зернистых масс магнезита, которые имеют связь с доломитами [Иванов и др., 1973].

Доломиты являются сырьем для магнезита. Запасы доломитов масштабы и имеют большой возраст, которые относятся еще к докембрийскому или пермскому периоду (рис. 5).



Рис. 5. Минерал доломит

Лидирующими территориями местонахождения магнезита являются США, Норвегия, Россия, Китай.

Большое количество магния находится в соленой воде. Виды нахождения магниального сырья:

1. морская вода – (Mg 0,12 – 0,13 %);
2. карналлит – $\text{MgCl}_2 \cdot \text{KCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Mg – 8,7 %);
3. бишофит – $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Mg – 11,9 %);
4. кизерит – $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Mg – 17,6 %);
5. эпсомит – $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Mg – 16,3 %);
6. каинит – $\text{KCl} \cdot \text{MgSO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Mg – 9,8 %);
7. магнезит – MgCO_3 (Mg 28,7 %);
8. доломит – $\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$ (Mg – 13,1 %);
9. брусит – $\text{Mg}(\text{OH})_2$ (Mg – 41,6 %).

Сплавы на основе магния являются важным конструкционным материалом в автомобильной и авиационной промышленности благодаря их лёгкости и прочности.

Наиболее часто магний применяют в качестве легирующего элемента для алюминия. В количествах от 1 до примерно 10 %, магний усиливает механические свойства, а также коррозионную стойкость алюминиевых сплавов. Аналогичным образом, чистый алюминий используется в качестве легирующего элемента во многих сплавах на основе магния [Титов, Степанов, 1974].

В черной металлургии небольшое количество магния добавляют к белому чугуна для превращения графита в сферические конкреции, тем самым значительно улучшая прочность и ковкость железа. Кроме того, дисперсный магний, смешанный с известью или другими наполнителями, вводится в жидкое железо, где он улучшает механические свойства стали путем сочетания с серой и кислородом.

Магний в виде чистого металла, а также его химические соединения (бромид, перхлорат) применяются для производства очень мощных резервных электрических батарей (магний-перхлоратный, серно-магниевый элемент, лористосвинцово-магниевый элемент, хлорсеребряно-магниевый [Дир

и др., 1996] элемент, хлористомедно-магниевый элемент, магний-ванадиевый элемент и др.), и сухих элементов (марганцево-магниевый элемент, висмутисто-магниевый элемент, магний-м-ДНБ элемент и др.) [Дракин, Чукуров, 1979].

В последние годы в ряде стран обострилась проблема разработки аккумулятора с большим сроком службы, так как теоретические данные позволяют утверждать очень большие перспективы его широкого использования (высокая энергия, экологичность, доступность сырья).

Оксид магния (MgO) применяется в качестве огнеупорного материала для производства тиглей и специальной футеровки металлургических печей.

Перхлорат магния, $Mg(ClO_4)_2$ – применяется для глубокой осушки газов в лабораториях, и в качестве электролита для химических источников тока с участием магния [Дир и др., 1996].

Фторид магния (MgF_2) в виде синтетических монокристаллов – применяется в оптике (линзы, призмы).

Карбонат магния представляет собой неорганическую соль, которая получается путем добычи минерального магнезита. Он представлен формулой $MgCO_3$ и обычно упоминается как «мел». $MgCO_3$ можно получить и путем лабораторного синтеза. Соединение является твердым и без запаха, представлены в виде белого порошка для различных целей [Булах, 1999].

1. $MgCO_3$ – используется в качестве пищевой добавки. Чистую форму этого соединения добавляют в поваренную соль. Добавка применяется в качестве агента, который препятствует комкованию;

2. Он добавляется к многочисленным пищевым продуктам, например, молотым специям, сахарному песку и различным другим пищевым ингредиентам, чтобы предотвратить повешенную влажность. В качестве пищевой добавки E504;

3. Добавляется в некоторые продукты для снижения кислотности. Поскольку «карбонат» из молекулы карбоната магния отделяет и прилипает к ионам водорода, которые повышают кислотность. Таким образом, он служит

нейтрализатором;

4. Используется в пищевой промышленности и производстве напитков в качестве фильтрата и осветлителя;

5. Является антацидом, оказывает успокаивающее действие. Различные добавки обогащены этим соединением, служат хорошим источником магния;

6. Используется для лечения диспепсии, ревматизма и подагры;

7. Используется в гипсовых отпечатках;

8. Магний необходим для клеток растений и человека. Пероральные добавки карбоната магния рекомендуются тем, у кого низкий уровень магния в крови;

9. Используется как антацид и слабительное. Это помогает облегчить симптомы диспепсии, изжоги;

10. В фармацевтической промышленности используется в качестве связующего агента и наполнителя для таблеток;

11. Присутствует в порошке талька, в стиральном порошке, используется для изготовления специальных типов мыла, поскольку он играет роль стабилизатора влаги;

12. Он присутствует в зубных пастах (помогает сохранить аромат);

13. Он используется для лечения различных желудочно-кишечных расстройств животных;

14. Он также используется в промышленном применении удобрений.

15. В основном он используется для получения оксида магния или магнезии, путем прокаливания MgO .

16. Наряду с минералами доломита, карбонат магния используется для производства огнеупорных кирпичей. Он также используется при изготовлении напольных покрытий. В керамической и стекольной промышленности;

17. Служит источником магния для производства каталитических соединений;

18. Применяется в качестве стабилизатора в автомобильных ПВХ-пластизолях;

19. В резиновой и пластмассовой промышленности он используется в качестве наполнителя. Он улучшает прочность резины и облегчает ее. Применяется в качестве усиливающего агента в производстве синтетического каучука;

20. Эксплуатируется в горячем и холодном изоляционном материале, огнегасящих составах;

21. Он действует, как средство подавления дыма [Ферсман, 1977].

1.4. Биологически активные пищевые добавки и лекарственные препараты для коррекции магний дефицитных состояний

Магний является незаменимым компонентом в организме человека. Он необходим более чем для 300 реакций в нашем теле, включая обмен веществ, синтез белка, рост клетки развитие ДНК и РНК [Минделл, 2000].

Магний, который находится вне клетки непрерывно пополняется запасами из мышечной ткани и костной, в случае возникновения внутриклеточного дефицита 20–30% депонированного элемента немедленно перемещается в клетку. Уровень транспорта магния через клеточные мембраны колеблется в различных типах клеток: наиболее высокий определяют в сердце, печени и почках, мышцах нижних конечностей, эритроцитах, головном мозге. Концентрация магния который находится внутри клетке выше в быстро делящихся клетках.

Магний включает в себя множество функций такие как:

1. поддержание здоровья тканей организма (нервная система, мышцы и кости);
2. контроль работы сердечных функций (ритм сердца, мышечный тонус, кровяное давление);
3. поддержание иммунной системы;

4. стабилизация уровня глюкозы в крови, увеличение уровня холестерина и ускорение развития атеросклероза, синдром хронической усталости [Пак, 2007].

Однако эти функции поддерживаются только до тех пор, пока уровень концентрации Mg находится в пределах нормы, (данные приводятся в таблице) если показатели Mg падают, начинаются проблемы.

Магний – это минерал, который важен для нормальной костной структуры в организме [Бетехтин, 2011]. Люди из своего рациона питания получают магний с пищей, но иногда магниевые добавки необходимы, если уровень магния слишком низкий.

Продукты с высоким содержанием клетчатки, как правило, содержат большое количество магния. Диетические источники магния включают бобовые, цельные зерна, овощи (особенно брокколи, зеленые листовые овощи), семена и орехи (миндаль). Другие источники включают молочные продукты, мясо, шоколад и кофе [Плавченко, 2000].

Магний был описан, как «невидимый дефицит» – преимущественно потому, что в крови хранится лишь небольшой процент магния; и для того, чтобы знать, есть ли недостаток, проводится анализ крови. Большинство дефицитов потребления магния являются маргинальными, 50–90% рекомендуемой от суточной нормы потребления [Минделл, 2000].

Люди употребляют биологические активные добавки чтобы предотвратить дефицит магния. Магний также используется, как слабительное, для подготовки кишечника, для хирургических или диагностических процедур.

Некоторые люди используют магний для предотвращения заболеваний сердца и кровеносных сосудов, высокий уровень «плохого» холестерина, называемый холестерином низкой плотности липопротеинов (ЛПНП), низкий уровень «хорошего» холестерина, называемый холестерином высокой плотности липопротеинов (ЛПВП) [Saris et al., 2000], заболеванием сердечного клапана (пролапсом митрального клапана) метаболический синдром, забитые артерии (болезнь коронарной артерии), инсульт и сердечный приступ.

Магний также используется для лечения синдрома дефицита внимания и гиперреактивности (СДВГ), тревожности, синдрома (КФС), болезни Лайма, фибромиалгии, кистозного фиброза, алкоголизма, мании, восстановления после операции, судорог ног в ночное время и во время беременности, остеопороз, предменструальный синдром, недержание мочи, состояние, вызывающее жгучую боль и покраснение [Saris et al., 2000], астмы, сенной лихорадки, рассеянного склероза, а также для предотвращения потери слуха и рака.

Некоторые люди применяют магний для лечения инфицированных кожных язв. Магний также используется в качестве холодного компресса для лечения тяжелой кожной инфекции, вызванной бактериями стрептококков, и как горячий компресс для глубоко укоренившихся кожных инфекций.

Магний также используется в качестве инъекции для контроля приступов, и лечения нерегулярного сердцебиения, для контроля нерегулярного сердцебиения, для лечения осложнений астмы и других заболеваний, при мигрени и кластерных, отравлениях, отеков в мозге, побочные, травма головы, болезнь серповидно-клеточной анемии, предотвращение церебрального паралича и столбняка [Дэвис, 2004; Пак, 2007].

Причины широкого распространения дефицита магния:

1. современные методы пищевой промышленности удаляют магний из продуктов (например, очищают зерно). Обработанные продукты, такие как: растительное масло, сахар, белая мука будут лишены магния;
2. кулинарные процессы (особенно кипячение), могут удалить магний;
3. магний не является обязательным требованием к маркировке пищевых продуктов;
4. при очистке воды или кипячении удаляется большая доля магния, что приводит к недостатку употребления микроэлемента в жидком виде. Даже вода в бутылках будет иметь низкий процент содержания магния [Saris et al., 2000].

Современных препаратов, содержащих магний, в фармацевтике довольно много. Они отличаются формой выпуска, количеством «элементарно-

го» магния, биологической доступностью и сочетанием с другими элементами, чаще с витамином В₆ [Забелина, 2003].

Лучшие формы биологически-активных добавок. Цитрат магния – является самой популярной добавкой магния, вероятно, потому, что он недорогой и легкоусваивается. Поскольку лимонная кислота является мягким слабительным, цитрат магния функционирует, как вспомогательное средство, это отличный выбор для людей с проблемами желудочно-кишечного тракта.

Таурат магния – лучший выбор добавки магния для людей с сердечно-сосудистыми заболеваниями, так как известно, что он предотвращает аритмию и защищает сердце от повреждений, вызванных сердечными приступами. Таурат магния легко абсорбируется [Кузнецова, 2013] (магний и таурин стабилизируют клеточные мембраны), и он не содержит слабительных свойств.

Магний малат – является фантастическим выбором для людей, страдающих от усталости, поскольку яблочная кислота присутствующая в большинстве клеток организма, является жизненно важным компонентом ферментов, которые играют ключевую роль в синтезе АТФ и производстве энергии. Поскольку ионные связи магния и яблочной кислоты легко разрушаются, магний малат также является высоко растворимым [Гаевый, Гаевая, 2013].

Глицинат магния – магний, связанный глицином, незаменимая аминокислота, является одним из наиболее биодоступных и абсорбируемых форм магния, а также наименее вероятным для развития диареи [Кузнецова, 2013] Это самый безопасный вариант для исправления дефицита.

Хлорид магния – хотя хлорид магния содержит лишь около 12% элементарного магния, он обладает впечатляющей скоростью поглощения и является лучшей формой магния для детоксикации клеток и тканей. Кроме того, хлорид помогает почкам и может усиливать вялый обмен веществ.

Карбонат магния – еще одна популярная биодоступная форма магния, которая фактически превращается в хлорид магния, когда она смешивается с соляной кислотой в желудке [Аткинс, 2001]. Это хороший выбор для людей,

страдающих расстройством желудка и кислотного рефлюкса, поскольку он содержит антацидные свойства.

Наихудшие формы биологически-активных добавок. Оксид магния, является наиболее распространенной формой магния, продаваемой в аптеках, но она не является хелатной и имеет низкую скорость всасывания по сравнению с перечисленными выше [Кузнецова, 2013]. Сульфат магния – также называемый солью Эпсона, оказывает хорошее действие от диареи, но является небезопасным так как высокий риск передозировки.

Глутамат магния и аспарат. Глутаминовая кислота и аспарагиновая кислота являются компонентами опасного искусственного подсластителя аспартамом, и оба становятся нейротоксичными, когда они не связаны с другими аминокислотами [Аткинс, 2001].

Зарубежный и отечественный рынок, выпускает большое количество магниевых содержащих препаратов, которые направлены на поддержание магниевых-дефицитных состояний.

Для обеспечения максимального усвоения магния, компанией «Эвалар» выпускается аминокислотный хелатный комплекс «Магний хелат». Он легко усваивается хелатными комплексами «Магний хелат Эвалар» (рис. 6).



Рис. 6. БАД Магний хелат Эвалар

Хелатная форма – магний может быть присоединен к неорганическому соединению, таким как кислород или углерод, образуя неорганическую соль.

Магний также может быть присоединен к органическому соединению, таким как глицин (аминокислота) или витамин С, образуя «хелат» [Забелина, 2003]. При добавлении перорально, предпочтительными являются органические хелаты, поскольку они наиболее легко расщепляются и усваиваются в этой форме.

Состав: магния аминокислотный хелат, орбит, мальтодекстрин, целлюлоза микрокристаллическая (носители); компоненты пленочного покрытия (пищевые добавки): гидроксипропилметилцеллюлоза (загуститель), диоксид титана (краситель), полиэтиленгликоль (глазирователь), тальк (агент антислеживающий); кроскармеллоза (носитель), стеарат кальция (агент антислеживающий).

Магний В₆ Эвалар (рис. 7) – комбинированный комплекс, состоящий из органической биодоступной соли магния (аспарагината магния) и витамина В₆.



Рис. 7. БАД Магний В₆ Эвалар

Витамин В₆ улучшает усвоение магния и его метаболизм в клетке. Он помогает магнию зафиксировать себя в клетке, это важно так как макроэлемент быстро выводится из организма. Аспарагинат переносит ионы Mg⁺⁺ и способствует их проникновению во внутриклеточное пространство [Гаевый, Гаевая, 2013]. Состав: магния аспарагинат, в том числе магний, витамин В₆ (Пиридоксин).

VitaTree Magnesium (рис. 8) – это специализированная форма магния, которая называется бисглицинатом магния.



Рис. 8. БАД VitaTree Magnesium

Эта форма магния обладает превосходной абсорбцией и не вызывает побочных эффектов даже при высоких дозах.

Состав: магний (аспарагинат).

Магне В₆ форте (рис. 9) – необходим при нехватке магния, в составе этого вещества есть соли, которые хорошо усваиваются, такие как лактат магния.



Рис. 9. БАД Магне В6 форте

Хороший эффект на усвояемость показывает органическая соль – пиридоксин [Гаевый, Гаевая, 2013]. Лактат магния в сочетании с витамином В₆

образует комплекс, который всасывается намного лучше, чем отдельно магний [Забелина, 2003].

Среди препаратов магния для беременных наиболее изучен и часто используется – Магне В₆.

Состав: В таблетке Магне В₆ содержится – 470 мг лактата магния, 5 г витамина В₆.

Магне В₆ форте отличается тем, что в одной его таблетке содержится больше лактата магния и 10 мг витамина В₆.

Source Naturals, комплекс Ultra-Mag (рис. 10) – состоит различных компонентов, которые хорошо усваиваются и быстро всасываются организмом. Магний необходим для поддержания и хранения энергии (АТФ), он расслабляет мышцы, активирует более 300 ключевых метаболических ферментов, контролирует уровень кальция в костях и зубах, и регулирует электрическую активность в нервных клетках [Гаевый, Гаевая, 2013].



Рис. 10. БАД Source Naturals, Комплекс Ultra-Mag

Состав: Витамин В₆ (в виде пиридоксина HCl) – 30 мг, магний (в виде цитрата магния, сукцината, глицината, малата и таурината) – 400 мг, натрий – 5 мг.

Существуют и побочные эффекты при чрезмерном потреблении биологически активных добавок. Некоторые побочные эффекты включают в себя:

низкое кровяное давление, диарею, проблемы с дыханием, а также влияют на нервную систему и мозг.

Побочные эффекты обычно присутствуют только тогда, когда человек потребляет больше магния, чем необходимо [Дэвис, 2004]. Также вполне вероятно, что у человека будут возникать и другие проблемы, если он или она будет испытывать дефицит магния. Этот элемент жизненно необходим для человека, но слишком много или слишком мало его обычно приносит больше вреда, чем пользы [Минделл, 2000].

Глава 2. Материалы и методы исследования

В работе использовали белый порошок карбонат магния (рис. 11) и оксида магния полученный из минерального сырья - магнезитовый концентрат с содержанием основного продукта – карбоната магния не менее 95%. (Халиловское месторождение, Оренбургская область, Россия).



Рис. 11. Порошок оксида магния

Исследование *in vitro* выполнено на клетках красного костного мозга, которые были получены из большеберцовых костей крыс самцов линии «Вистар» массой 250–300 грамм (питомник «Столбовая», Московская область, Россия).

Клетки красного костного мозга вымывали из костей физиологическим раствором в чашку Петри. Далее суспензию клеток сливали в пробирку, и добавляли до 10 мл 0,83% раствор хлорида аммония для разрушения не ядро-содержащих клеток. Затем суспензию центрифугировали в течение 4 мин при 1000 g.

Готовый супернатант клеток красного костного мозга получали, отмыв клетки изотоническим буферным раствором с осаждением центрифугированием в течение 2 мин при 1000 g.

Все дальнейшие манипуляции с клетками красного костного мозга проводили по следующей схеме: в чашки Петри 35x10 мм (SPL Lifesciences, Корея) помещали по 100 мкл суспензии клеток и 900 мкл среды 199 с солями Хенкса и глутамином (ПанЭКО, Россия). Для опытов *in vitro* с карбонатом и

оксидом магния было приготовлено 6 контрольных проб клеток красного костного мозга, а также 24 опытных проб с ККМ.

Оценку биодоступности проводили путем добавления 0,06 мМ карбоната магния (3 пробы с ККМ) и 0,12 мМ карбоната магния в среду для культивирования клеток (3 пробы с ККМ).

Идентификацию магния в клетках осуществляли при помощи флуоресцентного красителя на Mg^{2+} – Magnesium Green, АМ (M3735, Molecular probes, США).

Стоковый раствор Magnesium Green готовили согласно инструкции производителя. Затем к 1000 мкл среды 199, содержащей клетки, добавляли 30 мкл флуоресцентного красителя на Mg^{2+} . Клетки инкубировали при 37°C в течение 60 мин в присутствии 5% CO_2 .

Оценку цитотоксичности осуществляли по той же схеме, добавив 0,06 мМ карбоната магния (3 пробы с ККМ) и 0,12 мМ карбоната магния в среду для культивирования (3 пробы с ККМ). Цитотоксический эффект определяли по числу живых клеток в суспензии, используя двойное окрашивание (рис. 12) – этидиум бромидом (Sigma-Aldrich, США) и ацетооксиметиловым эфиром кальцеина (Sigma-Aldrich, США).

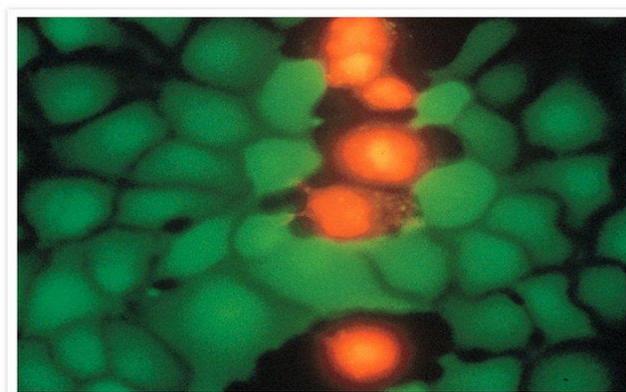


Рис. 12. Цитотоксический, эффект двойное окрашивание. Флуоресценция живых (зеленым) и мертвых (красным) клеток

Стоковые растворы красителей готовили согласно инструкции производителя. Из стоковых растворов получали рабочий раствор: 4 мкМ этидиум

бромида и 2 мкМ ацетооксиметилового эфира кальцеина растворяли в 1,5 мл раствора Дульбекко (ПанЭКО, Россия). К 1000 мкл среды 199, содержащей клетки, добавляли по 30 мкл двухкомпонентного раствора флуоресцентных красителей. Клетки инкубировали при 37°C в течение 30 мин в присутствии 5% CO₂. После истечения времени инкубации клетки дважды отмывали от красителей и добавляли свежую среду 199. Подсчитывали число живых (зеленая флуоресценция) и мертвых клеток (красная флуоресценция).

Оценку биодоступности оксида магния проводили путем добавления 0,250 мМ (3 пробы с ККМ) и 0,125 мМ оксида магния в среду для культивирования клеток (3 пробы с ККМ). Идентификацию магния в клетках осуществляли при помощи флуоресцентного красителя на Mg²⁺ – Magnesium Green, AM (M3735, Molecular probes, США).

Оценку цитотоксичности осуществляли по той же схеме, добавив 0,250 мМ оксида магния (3 пробы ККМ) и 0,125 мМ оксида магния (3 пробы с ККМ).

Цитотоксический эффект определяли по числу живых клеток в суспензии, используя двойное окрашивание – этидиум бромидом (Sigma-Aldrich, США) и ацетооксиметиловым эфиром кальцеина (Sigma-Aldrich, США). После истечения времени инкубации клетки дважды отмывали от красителей и добавляли свежую среду 199, подсчитывали число живых (зеленая флуоресценция) и мертвых клеток (красная флуоресценция).

Все пробы исследовали при помощи флуоресцентного микроскопа Eclipse Ti-U (Nikon, Япония), идентификацию и документирование проводили, используя программу NIS-Elements D (Nikon, Япония), интенсивность флуоресценции определяли при помощи программного обеспечения EZ-C1_FreeViewer_Ver3.90 (Nikon, Япония).

Итоговые результаты были получены с помощью компьютерных программ вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Глава 3. Полученные результаты и их обсуждение

В результате настоящего исследования было установлено, что добавление карбоната магния в культуральную среду способствовало накоплению ионов магния внутри клеток по сравнению с группой контроля (рис. 13).

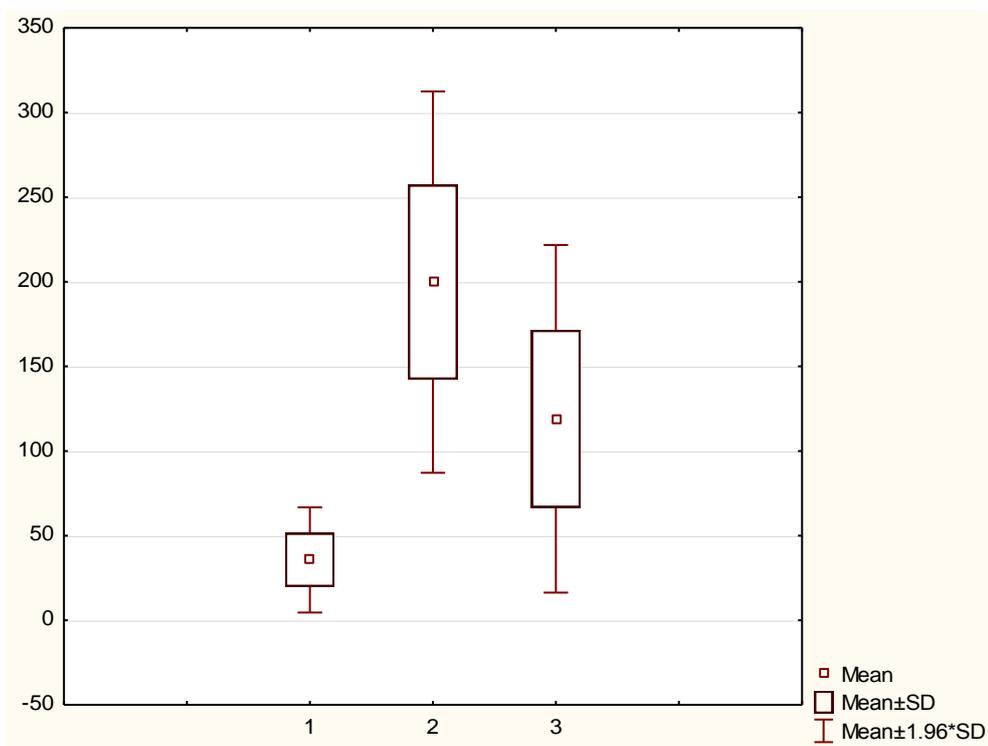


Рис. 13. Диаграмма интенсивности флуоресценции ионов магния (в у.е.) в цитоплазме клеток красного костного мозга: 1 – контроль, 2 – опыт 0,12 мМ карбоната магния, 3 – опыт 0,06 мМ карбоната магния

Так при добавлении 0,12 мМ карбоната магния в пробу, где находились клетки красного костного мозга, отмечалось увеличение интенсивности флуоресценции клеток ($199,82 \pm 57,50$ у.е.) по сравнению с контрольными ($35,68 \pm 15,85$ у.е.) и опытными пробами, в которые было добавлено 0,06 мМ карбоната магния ($119,01 \pm 52,39$ у.е.), при $p < 0,01$ (рис. 14, 15, 16, 17, 18, 19).

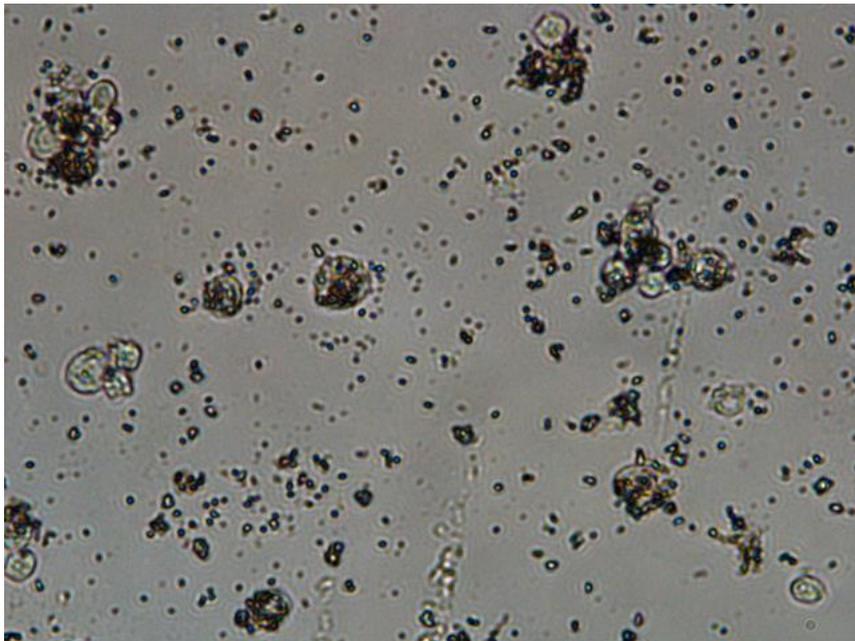


Рис. 14. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга –
контрольная проба (x200)

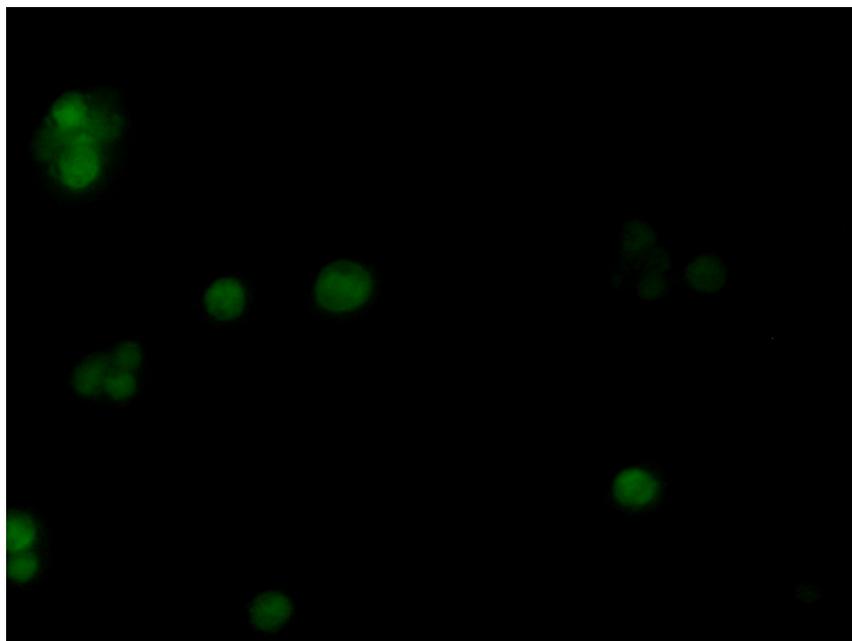


Рис. 15. Флуоресцентная микроскопия клеток красного костного мозга –
контрольная проба, свечение ионов магния зеленым цветом (x200)

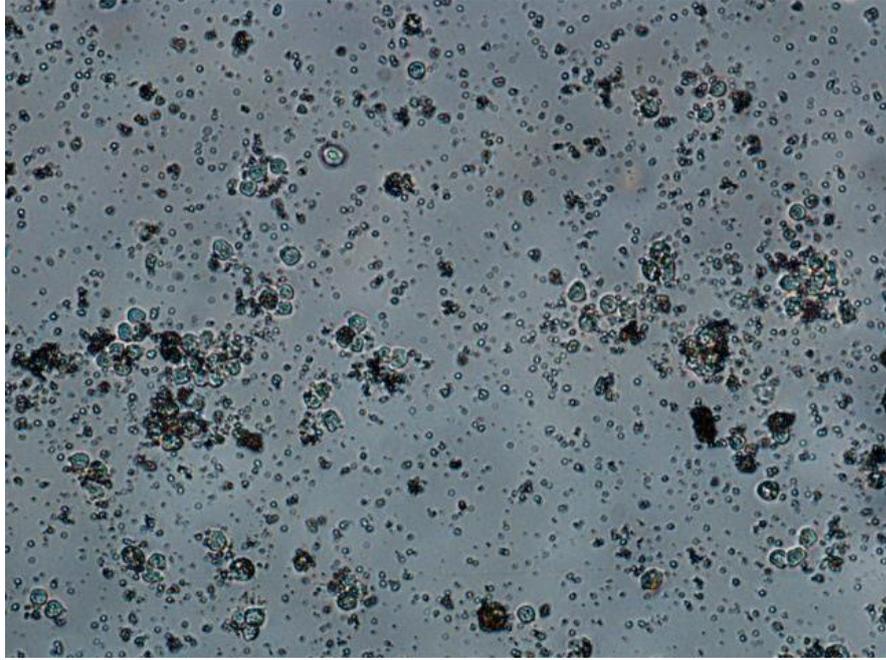


Рис. 16. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга – опытная проба, содержание в пробе 0,06 мМ карбоната магния (x100)

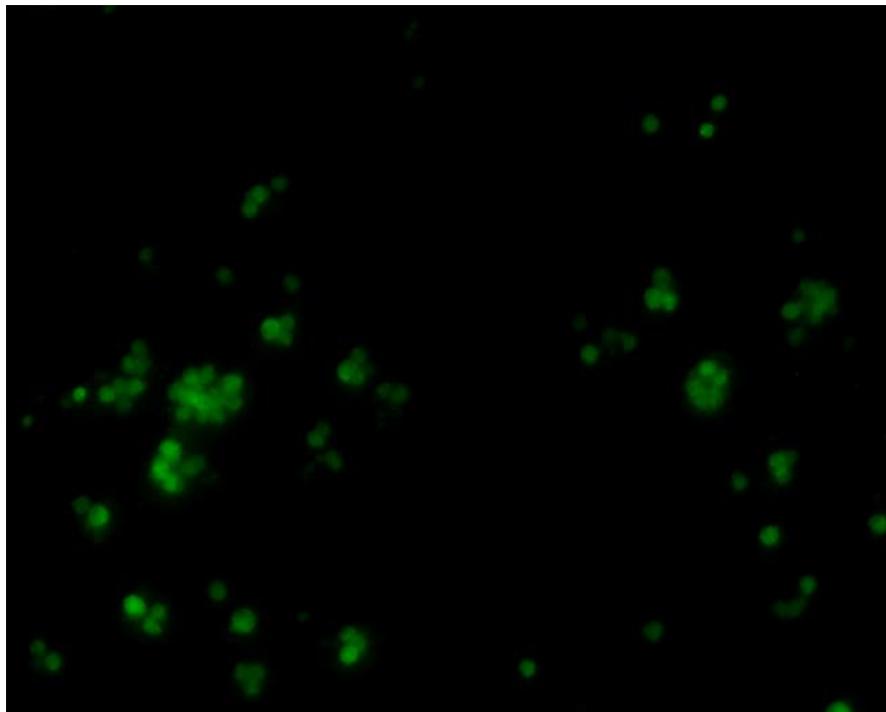


Рис. 17. Флуоресцентная микроскопия клеток красного костного мозга, свечение ионов магния зеленым цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,06 мМ карбоната магния (x100)

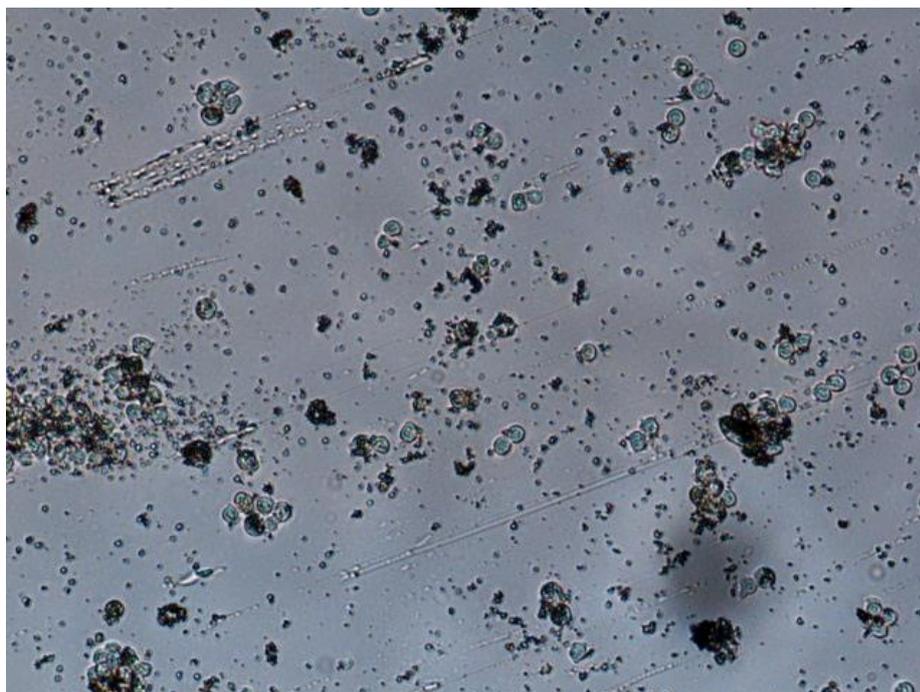


Рис. 18. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга – опытная проба, содержание в пробе 0,12 мМ карбоната магния (x100)

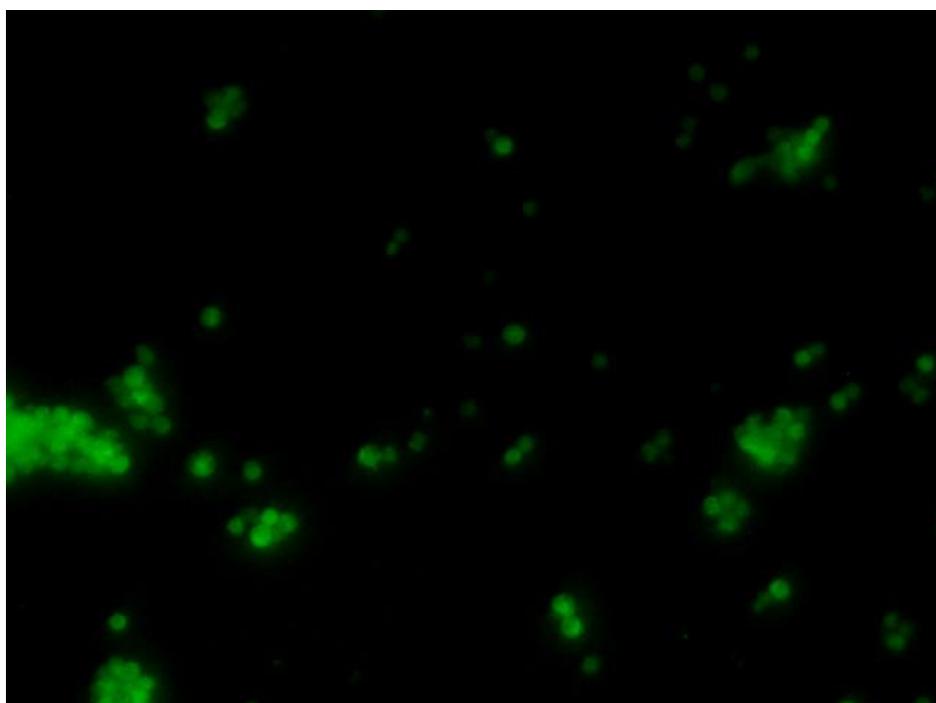


Рис. 19. Флуоресцентная микроскопия клеток красного костного мозга, свечение ионов магния зеленым цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,12 мМ карбоната магния (x100)

Существенное увеличение флуоресценции Mg^{2+} , по сравнению с контрольными пробами по-видимому связано с высвобождением Mg^{2+} из карбоната магния и его транспортом через клеточную мембрану.

Анализ числа живых клеток в присутствии карбоната магния в культуральной среде показал, что с увеличением концентрации данного вещества в пробах число живых клеток уменьшается.

Так, при добавлении 0,12 мМ карбоната магния в пробы, число живых клеток составило $36,73 \pm 16,60$ штук, тогда как в контрольных пробах оно равнялось $82,40 \pm 28,50$ штук, при $p < 0,01$. Необходимо отметить, что число живых клеток при добавлении 0,06 мМ карбоната магния имеет тенденцию к снижению и составило $65,78 \pm 77,34$ штук, достоверных различий по сравнению с контрольными пробами не установлено.

На ряду с этим отмечается адгезия клеток красного костного мозга на поверхность частиц карбоната магния, с сохранением их жизнеспособности, что свидетельствует об отсутствии цитотоксического эффекта в данной концентрации вещества (рис. 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31).

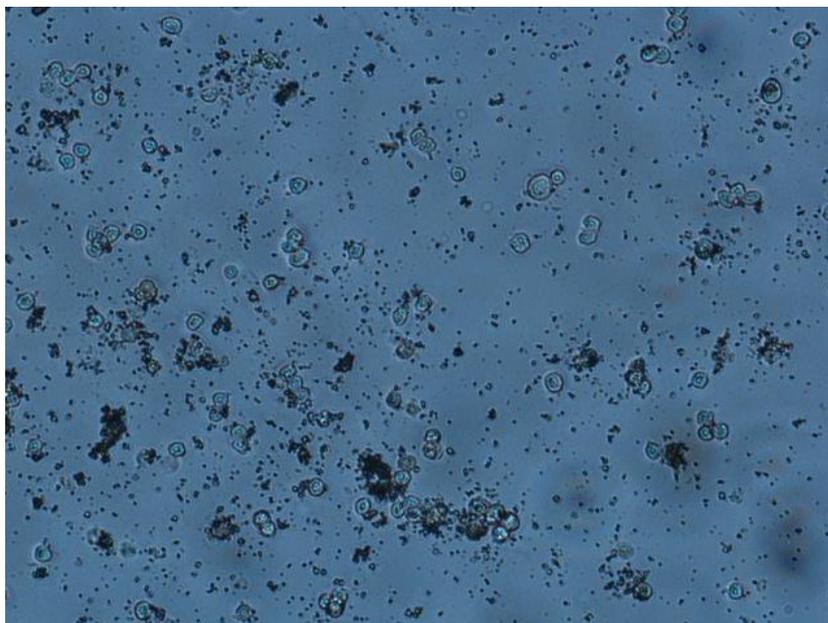


Рис. 20. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга – контрольная проба (x100)

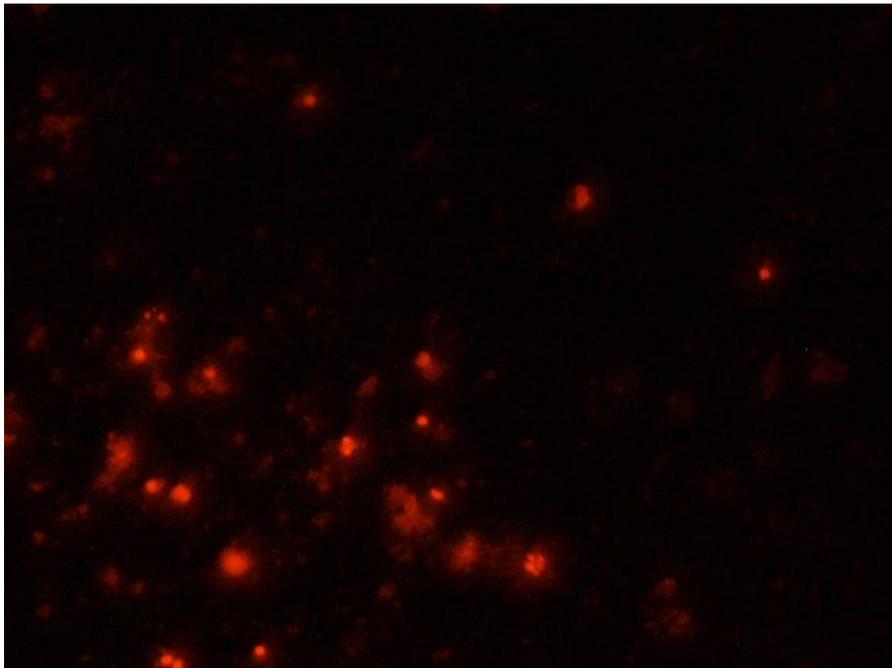


Рис. 21. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга – контрольная проба, свечение мертвых клеток красным цветом (x100)

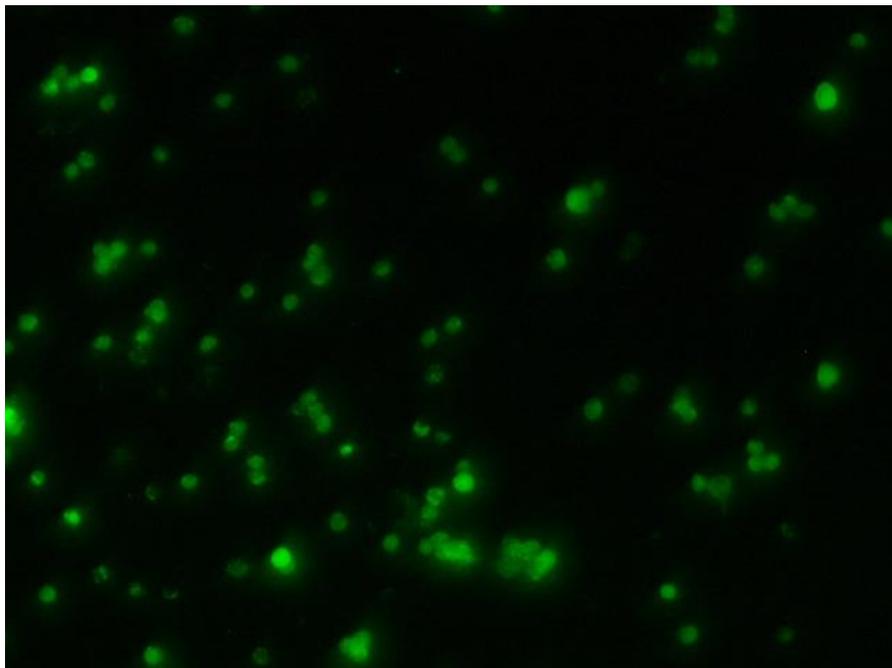


Рис. 22. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга – контрольная проба, свечение живых клеток зеленым цветом (x100)

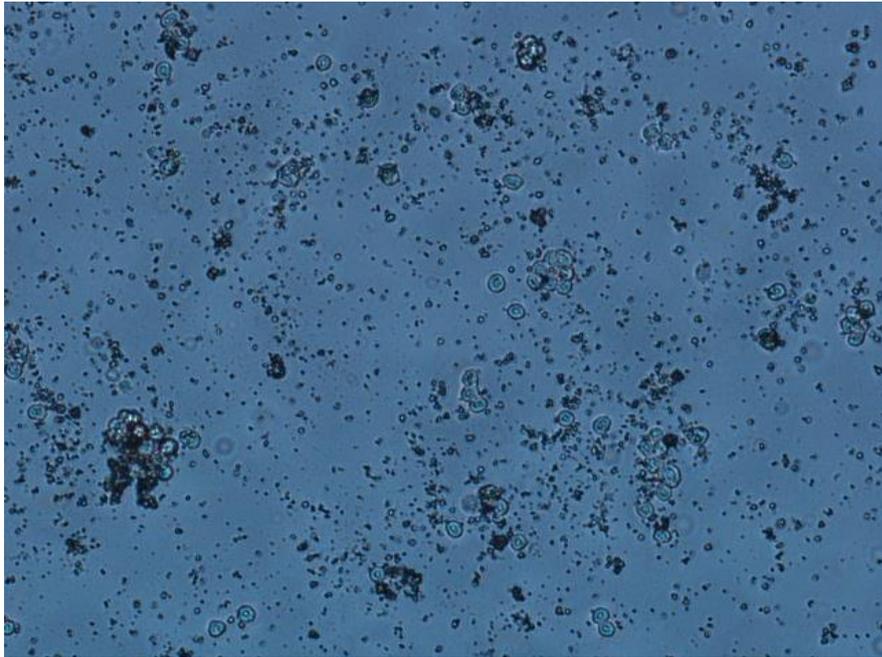


Рис. 23. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга – опытная проба, содержание в пробе 0,06 мМ карбоната магния (x100)

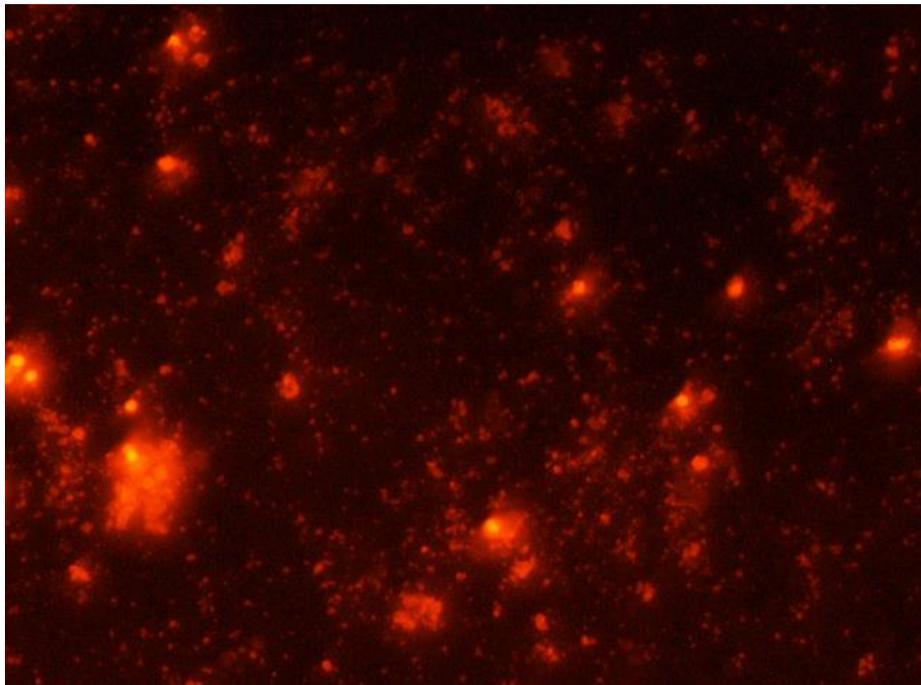


Рис. 24. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга, свечение мертвых клеток красным цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,06 мМ карбоната магния (x100)

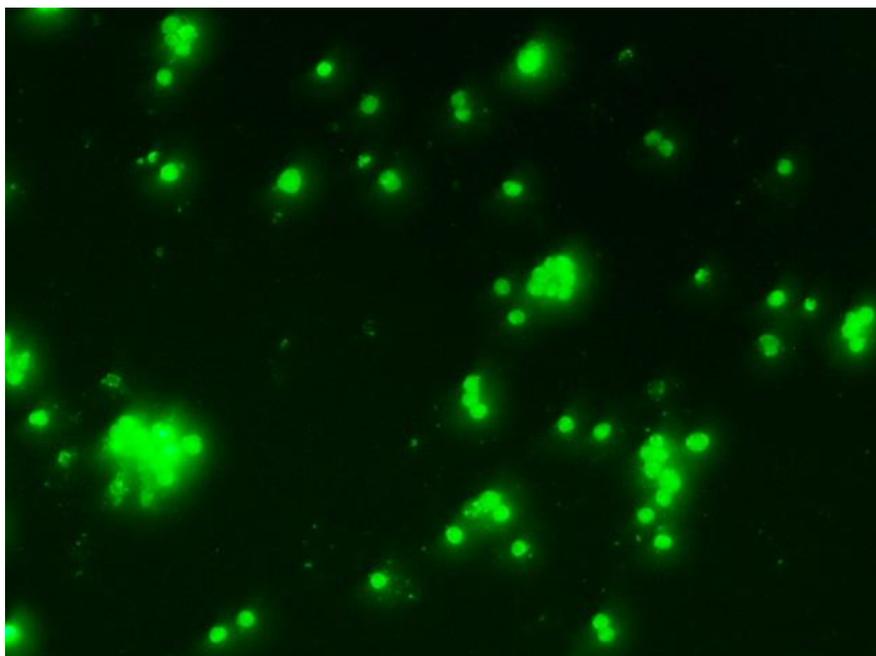


Рис. 25. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга, свечение живых клеток зеленым цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,06 мМ карбоната магния (x100)

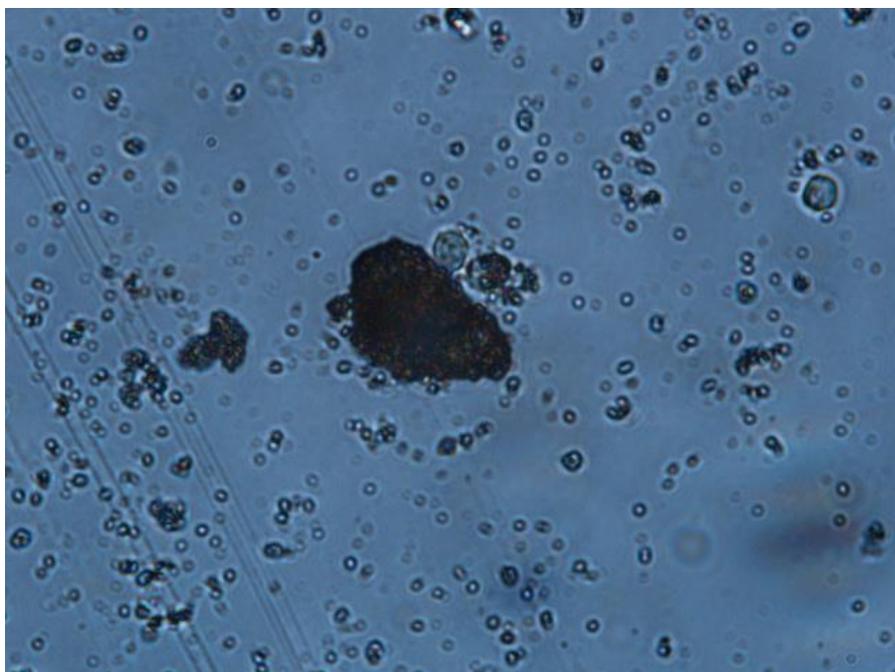


Рис. 26. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга контактирующие с частицей карбоната магния – опытная проба, содержание в пробе 0,06 мМ карбоната магния (x200)

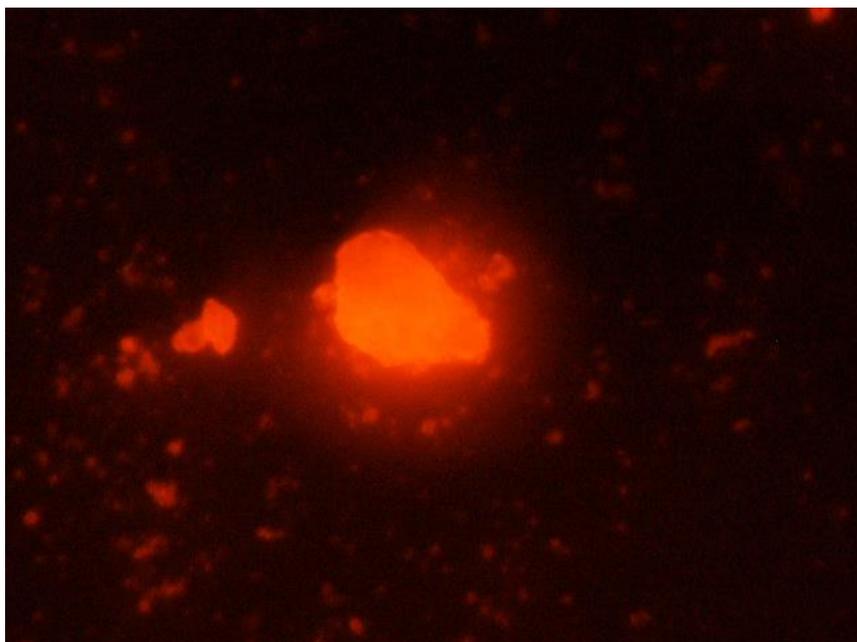


Рис. 27. Флуоресцентная микроскопия, частицы карбоната магния, флуоресцирующие красным цветом – опытная проба, содержание в пробе 0,06 мМ карбоната магния (x200)

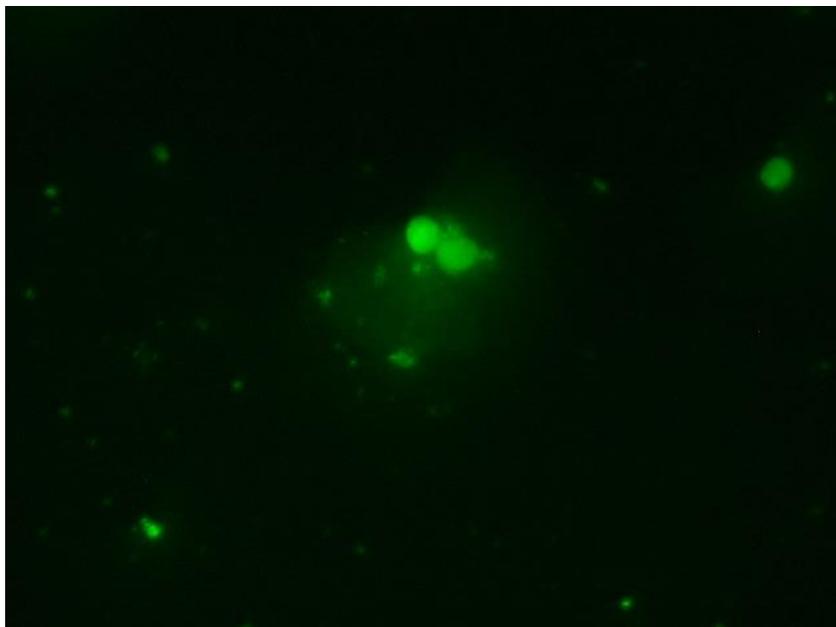


Рис. 28. Флуоресцентная микроскопия, живые клетки красного костного мозга контактирующие с частицей карбоната магния – опытная проба, содержание в пробе 0,06 мМ карбоната магния (x200)

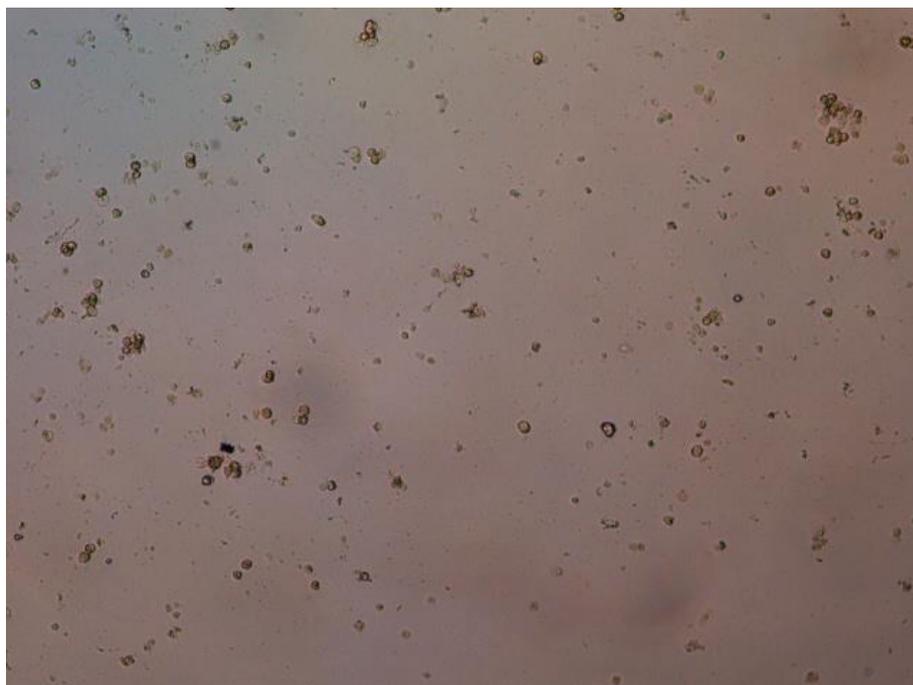


Рис. 29. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга – опытная проба, содержание в пробе 0,12 мМ карбоната магния (x40)

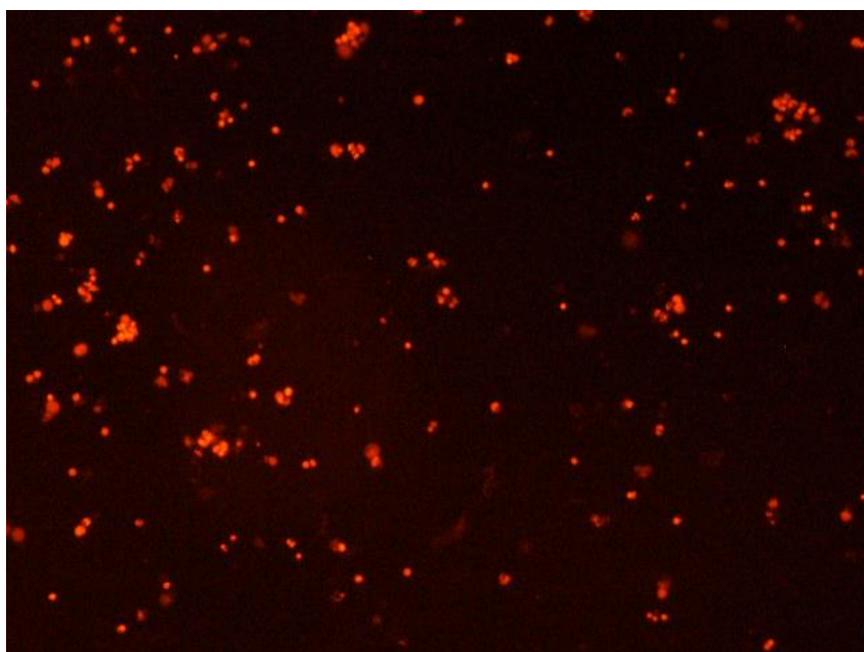


Рис. 30. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга, свечение мертвых клеток красным цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,12 мМ карбоната магния (x40)

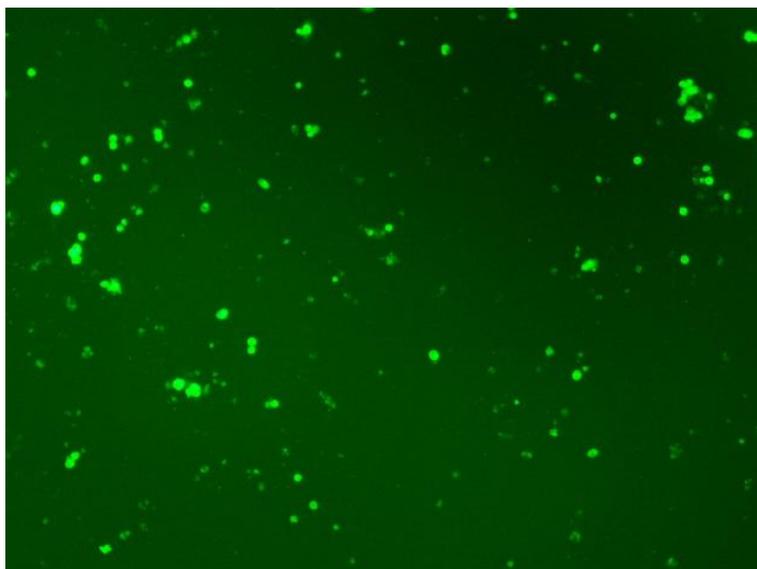


Рис. 31. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга, свечение живых клеток зеленым цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,12 мМ карбоната магния (x40)

Анализ количественных данных показал, что выраженный цитотоксический эффект проявляется при содержании карбоната магния 0,12 мМ в культуральной среде (количество живых клеток составило $36,73 \pm 16,60$ штук, мертвых – $76,23 \pm 48,35$ штук).

Содержание карбоната магния 0,06 мМ в культуральной среде не вызывает цитотоксического эффекта (количество живых клеток составило $65,78 \pm 77,34$ штук, мертвых – $62,25 \pm 27,23$ штук), в контрольных пробах количество живых клеток составило – $86,98 \pm 45,11$ штук, мертвых – $33,48 \pm 14,78$ штук.

На ряду с этим необходимо отметить, что сам карбонат магния при контакте с клетками не вызывает их гибель. В данном случае цитотоксический эффект карбоната магния 0,12 мМ в культуральной среде может быть связан с изменением физико-химических свойств среды, в которой культивировались клетки красного костного мозга.

В ходе исследования воздействия оксида магния было установлено, что при добавлении 0,250 мМ оксида магния в пробу, где находились клетки

красного костного мозга, отмечалось снижение интенсивности флуоресценции клеток ($9,29 \pm 6,38$ у.е.) по сравнению с контрольными ($32,79 \pm 14,30$ у.е.) и опытными пробами, в которые был добавлен $0,125$ мМ оксид магния ($36,41 \pm 15,41$ у.е.), при $p < 0,01$ (рис. 32, 33, 34, 35, 36, 37).

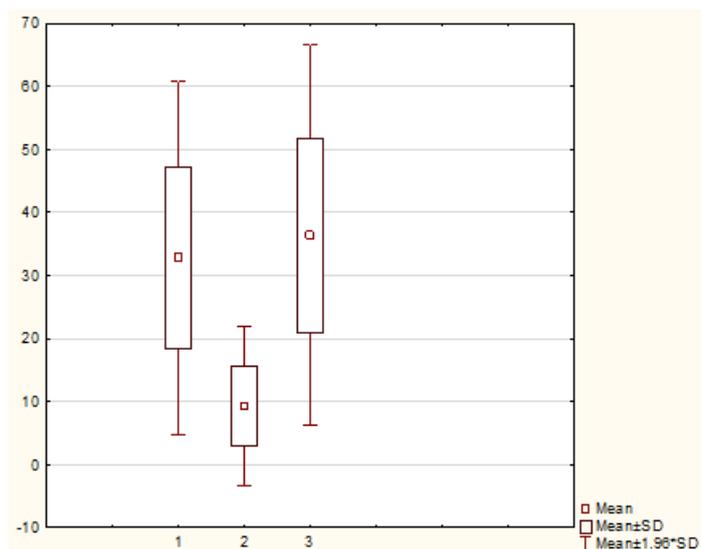


Рис. 32. Интенсивность флуоресценции ионов магния (в у.е.) в цитоплазме клеток ККМ: 1 – контроль, 2 – опыт $0,250$ мМ оксида магния, 3 – опыт $0,125$ мМ оксида магния

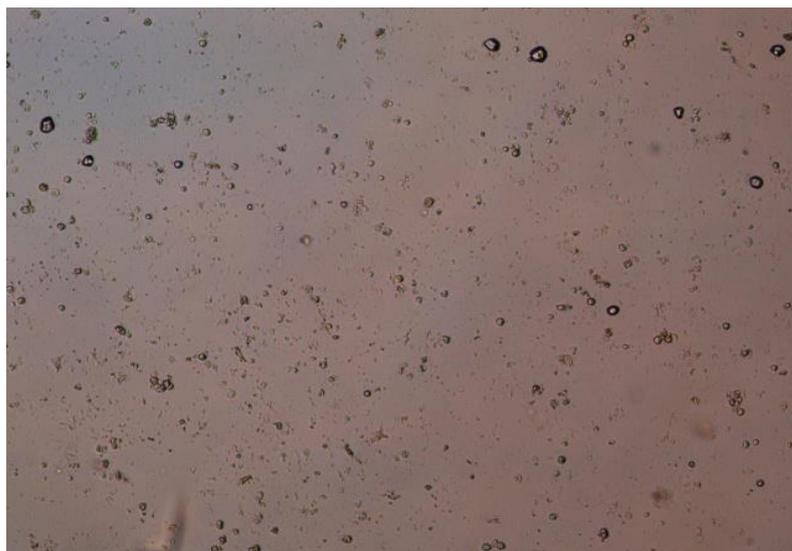


Рис. 33. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга – контрольная проба (x40)

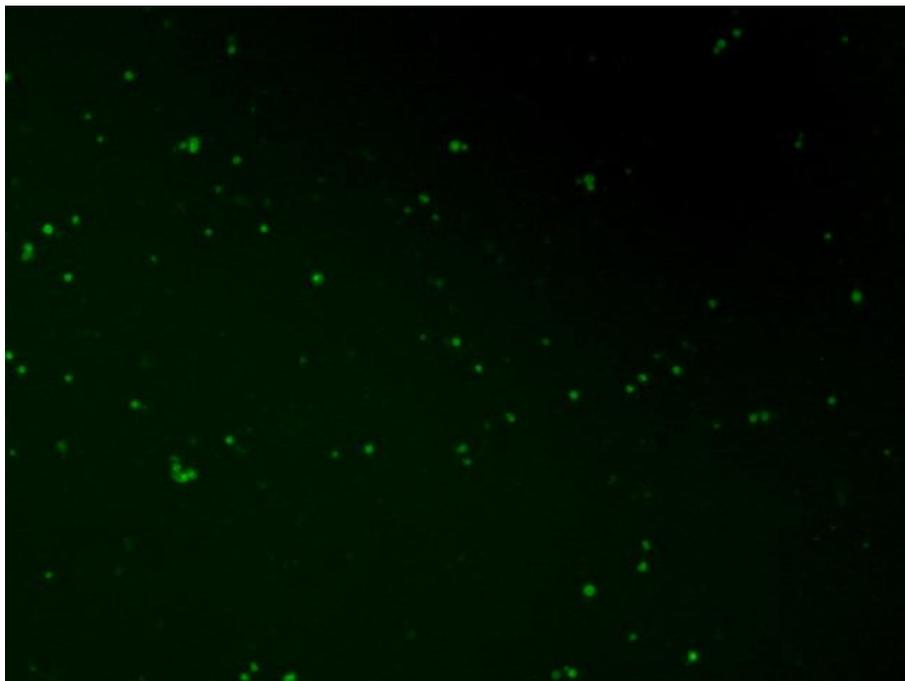


Рис. 34. Флуоресцентная микроскопия клеток красного костного мозга – контрольная проба, свечение ионов магния зеленым цветом (x40)



Рис. 35. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга – опытная проба, содержание в пробе 0,125 мМ оксида магния (x40)

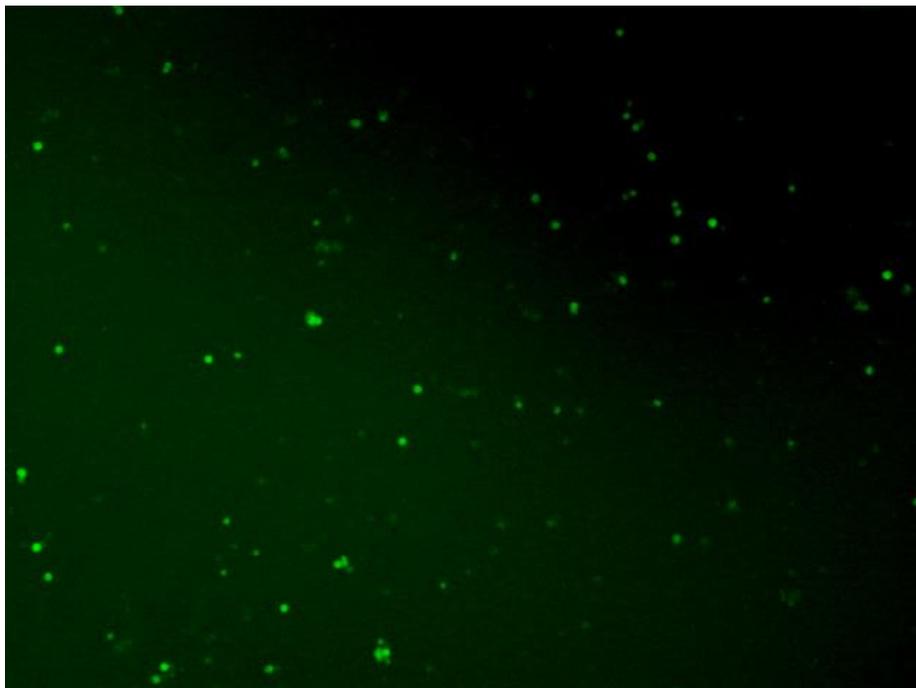


Рис. 36. Флуоресцентная микроскопия клеток красного костного мозга, свечение ионов магния зеленым цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,125 мМ оксида магния (x40)



Рис. 37. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга – опытная проба, содержание в пробе 0,250 мМ оксида магния (x40)

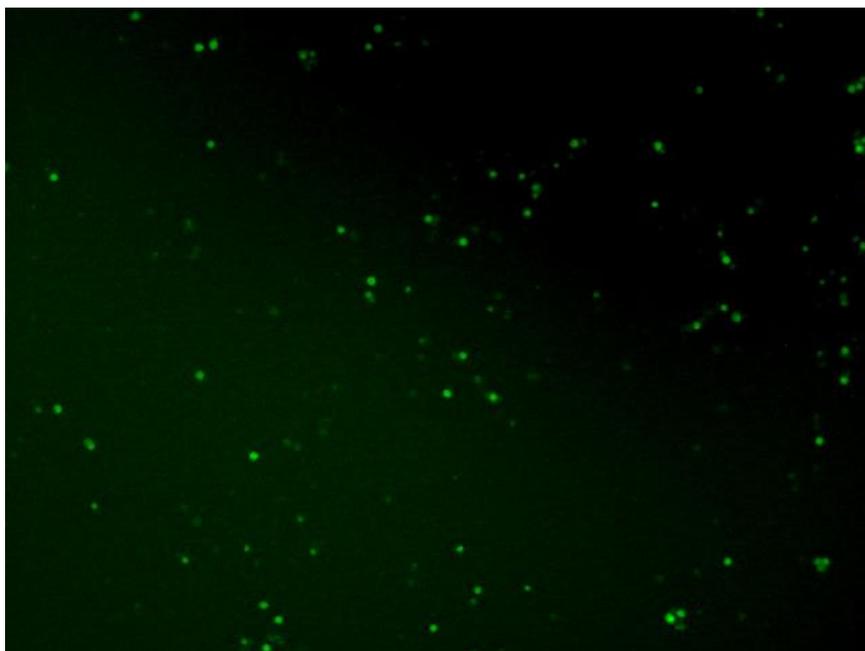


Рис. 38. Флуоресцентная микроскопия клеток красного костного мозга, свечение ионов магния зеленым цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,250 мМ оксида магния (x40)

Снижение флуоресценции Mg^{2+} , которое было зарегистрировано у клеток красного костного мозга при добавлении в среду культивирования 0,250 мМ оксида магния, может быть связано с тем, что увеличение внеклеточной концентрации элемента стимулирует обменные процессы внутри клетки, это приводит к переходу магния из свободного состояния в связанное. При этом необходимо отметить, что при добавлении 0,125 мМ оксида магния в среду для культивирования не отмечалось снижения флуоресценции в опытных пробах с клетками красного костного мозга по сравнению с контрольными пробами.

Анализ числа живых и мертвых клеток в присутствии оксида магния в культуральной среде показало, что число живых клеток красного костного мозга при добавлении 0,125 мМ оксида магния в пробу было выше ($100,20 \pm 15,53$ шт.), чем при добавлении в среду 0,250 мМ оксида магния ($58,10 \pm 30,49$ шт.) и чем в контрольных пробах ($85,20 \pm 18,32$ шт.), при $p < 0,01$ (рис. 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47).



Рис. 39. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга –
контрольная проба (x40)

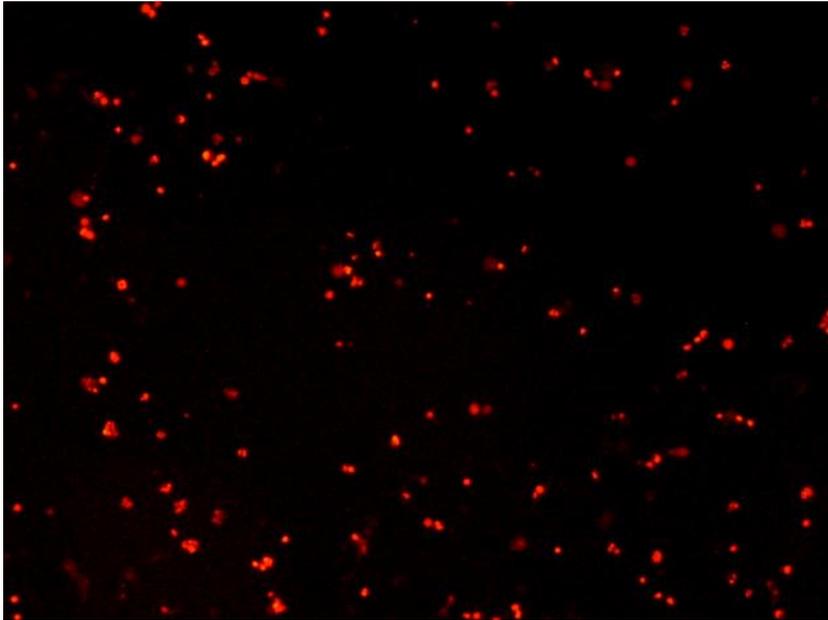


Рис. 40. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга –
контрольная проба, свечение мертвых клеток красным цветом (x40)

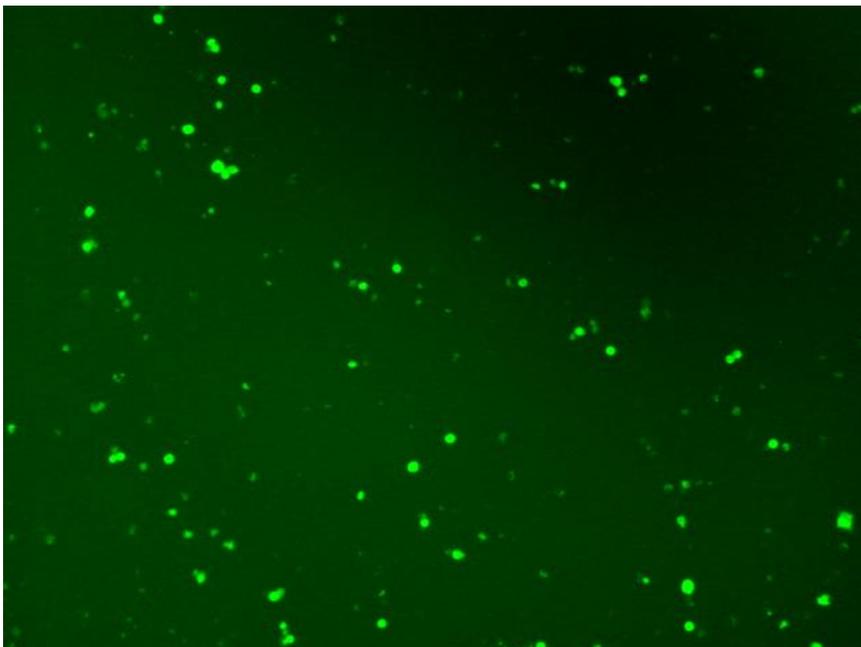


Рис. 41. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга— контрольная проба, свечение живых клеток зеленым цветом (x40)



Рис. 42. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга – опытная проба, содержание в пробе 0,125 мМ оксида магния (x40)

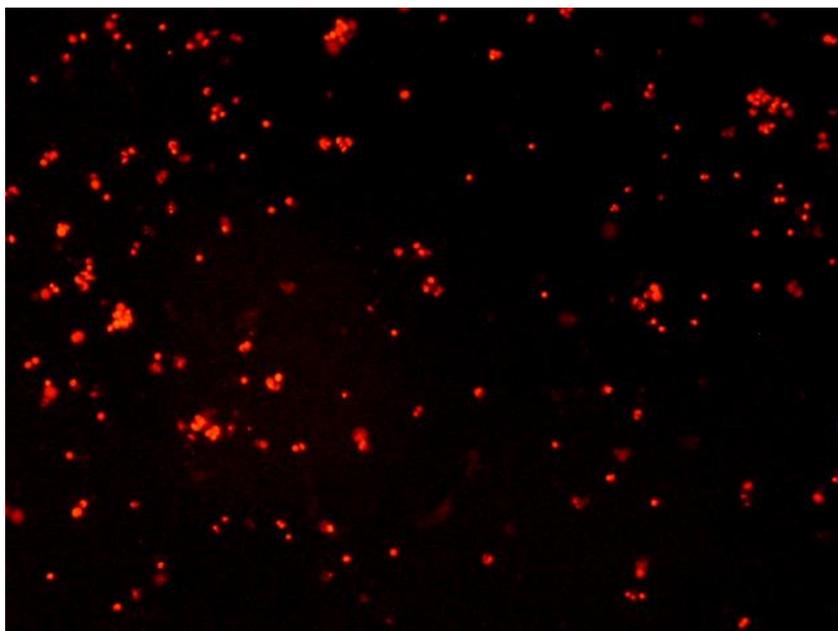


Рис. 43. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга, свечение мертвых клеток красным цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,125 мМ оксида магния (x40)

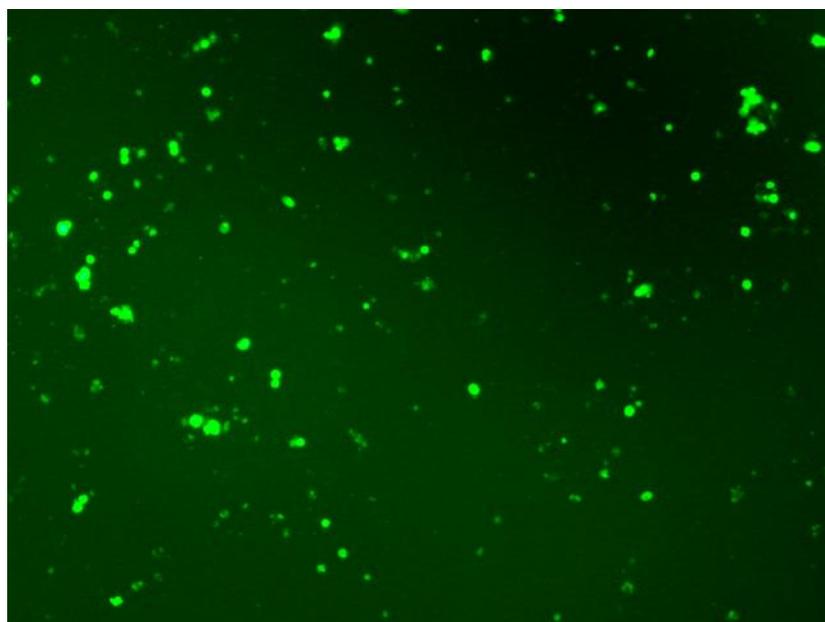


Рис. 44. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга, свечение живых клеток зеленым цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,125 мМ оксида магния (x40)



Рис. 45. Световая микроскопия, клетки красного костного мозга – опытная проба, содержание в пробе 0,250 мМ оксида магния (x40)

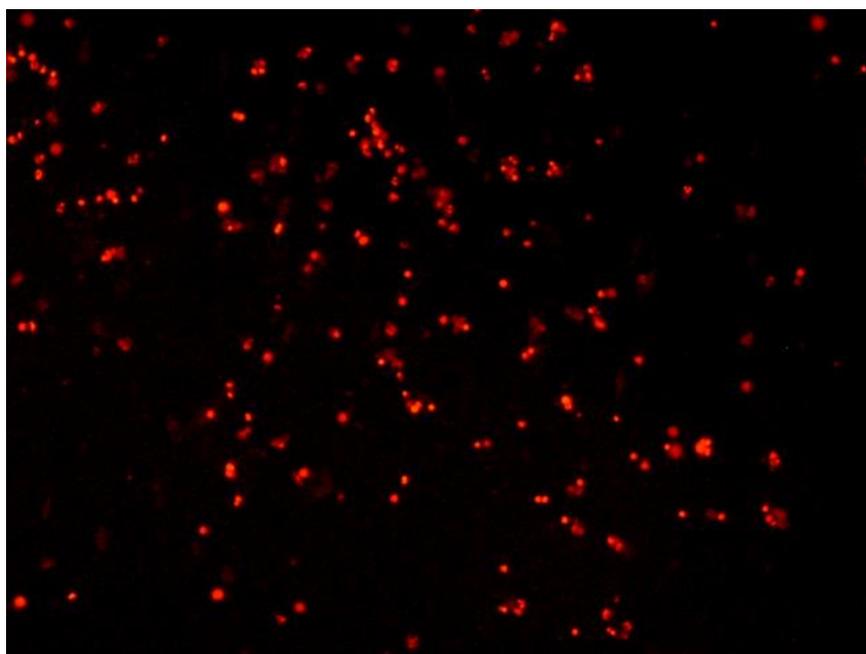


Рис. 46. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга, свечение мертвых клеток красным цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,250 мМ оксида магния (x40)

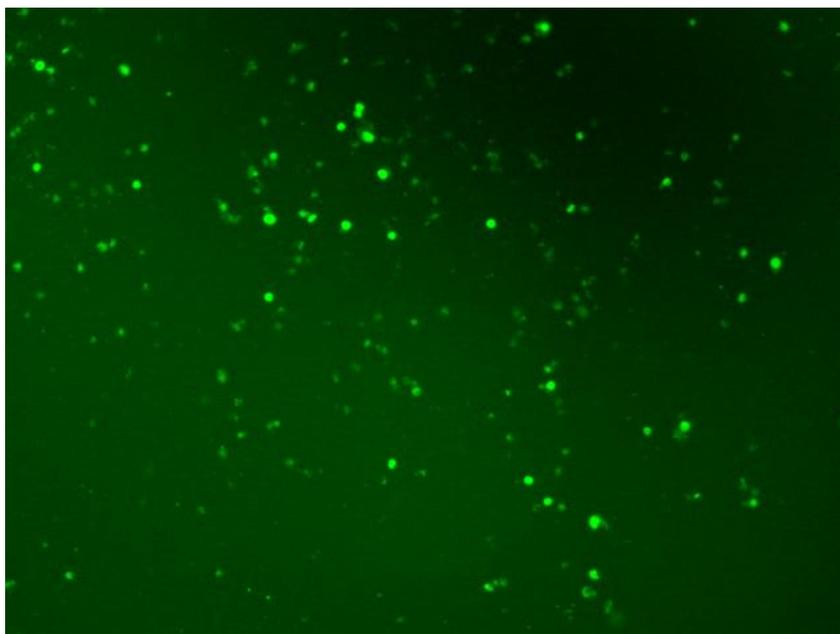


Рис. 47. Флуоресцентная микроскопия, клеток красного костного мозга, свечение живых клеток зеленым цветом: опытная проба, содержание в пробе 0,250 мМ оксида магния (x40)

В ходе исследования было установлено, что карбонат магния, находясь в водной среде (среда 199 с солями Хенкса и глутамином, температура 37°C, 5% CO₂.) для культивирования клеток в присутствии CO₂ проявляет свою биологическую активность. Так как известно, что при насыщении CO₂ водной суспензии MgCO₃ растворяется вследствие образования гидрокарбоната Mg(HCO₃)₂, что способствует его разложению и повышению биодоступности Mg²⁺. Было установлено, что в цитоплазме ядросодержащих клеток зарегистрировано увеличение концентрации свободного Mg²⁺ в зависимости от увеличения содержания карбоната магния в среде для культивирования клеток.

Цитотоксический эффект влияния частиц карбоната магния связан не с токсичностью вещества, а с изменением физико-химических свойств среды, в которой культивировались клетки.

Таким образом, карбонат магния, полученный из магниезиального концентрата обладает высокой биодоступностью для Mg²⁺ и биоактивностью.

При этом необходимо строго учитывать концентрацию карбоната магния при изучении его влияния на биологические объекты и разработки моделей для коррекции магнией дефицитных состояний.

Исследование воздействия оксида магния на ядродержащие клетки показало, что они также реагируют на изменение концентрации оксида магния в растворе, который, вероятно, повышает их функциональную активность, опосредуя депонирование ионов магния в свободной форме.

Вместе с тем для ядродержащих клеток красного костного мозга характерно изменение жизнеспособности в зависимости от концентрации наночастиц оксида магния в культуральной среде. При этом добавление 0,250 мМ оксида магния в среду оказывает цитотоксическое действие, но не тотальное, тогда как добавление 0,125 мМ оксида магния приводит к увеличению жизнеспособности клеток, что свидетельствует об активации внутриклеточных обменных процессов под этим воздействием.

Таким образом, наночастицы оксида магния, полученные из магнезиального концентрата в процессе обогащения природного аморфного магнезита, характеризуются как биодоступные и обладающие высокой биоактивностью. Однако необходимо учитывать концентрацию оксида магния при изучении его влияния на биологические объекты.

Выводы

1. Карбонат и оксид магния, полученные из природного магниезального концентрата обладают высокой биодоступностью для Mg^{2+} .
2. Количество живых и мертвых ядродержащих клеток красного костного мозга изменяется в зависимости от увеличения концентрации карбоната и оксида магния в среде для культивирования клеток, при этом цитотоксический эффект влияния частиц связан не с токсичностью вещества, а с изменением физико-химических свойств среды, в которой культивировались клетки.
3. Оксид магния обладает большей биологической активностью по сравнению с карбонатом магния.

Список использованных источников

1. Аарон-Маор И. Все, что известно о магнии // Междунар. мед. журн. 1998. № 1. С. 74–77.
2. Аметов А. С., Шустов С. Б., Халимов Ю. Ш. Эндокринология: Учеб. пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 352 с.
3. Аткинс Р. Биодобавки доктора Аткинса. Природная альтернатива лекарствам при лечении и профилактике болезней. М.: Рипол классик, 2001. 137с.
4. Бетехтин А. Г. Курс минералогии. М.: КДУ, 2011. 545 с.
5. Белов Н. В. Очерки по структурной минералогии. М.: Недра, 1976. 344 с.
6. Булах А. Г. Общая минералогия: учеб. пособие. СПб.: С-ПГУ, 1999. 356 с.
7. Гаевый М. Д., Гаевая Л. М. Фармакология с рецептурой. М.: КНОРУС, 2013. 384 с.
8. Годовиков А. А. Химические основы систематики минералов. М.: Недра, 1979. 304 с.
9. Дир У. А., Хауи Р. А., Зусман Д. Ж. Породообразующие минералы. М.: Мир, 1966. 371 с.
10. Дракин С. И., Чукуров П. М. Производство магния. М.: Наука, 1979. 235 с.
11. Дэвис А. Нутрицевтика. Питание для жизни, здоровья и долголетия. М.: Саттва, 2004. 188 с.
12. Забелина В. Д. Магний и магнийсодержащие препараты // С магнием по жизни. 2003. Т. 3, № 5. С. 27–30.
13. Иванов А. И., Ляндрес М. Б., Прокофьев О. В. Аналитическая химия магния. М.: Наука, 1973. 545 с.
14. Ломакин М. С. Иммунологический надзор. М.: Медицина, 1990. 225 с.

15. Минделл Э. Справочник по витаминам и минеральным веществам. М.: Медицина и питание, 2000. 130 с.
16. Москалев Ю. И. Минеральный обмен. М.: Медицина, 1985. 288 с.
17. Кузнецова Н. В. Клиническая фармакология М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 272 с.
18. Пак Л. С. Значение магния в патогенезе и лечении больных пролапсом митрального клапана // Трудный пациент. 2007. № 5. С. 6–13.
19. Плавченко А. Л. Продукты – спутники здоровья // Мед. консультация. 2000. № 3. С. 33–34.
20. Регуляторные системы организма человека / В. А. Дубынин, А. А. Коменский, М. Р. Сапин, В.И. Сивоглазов. М.: Дрофа, 2010. 365 с.
21. Талако С. А. Возможная роль рецепторных доменов плазматических мембран в механизмах дифференцировки и деления клеток, и регуляция этих процессов специфическими рецепторными лигандами. Биофизика. М.: Наука, 1997. 259 с.
22. Титов Н. Д., Степанов Ю.А. Технология литейного производства. М.: Машиностроение, 1974. 472 с.
23. Ферсман А. Е. Очерки по минералогии и геохимии. М.: Наука, 1977. 192 с.
24. Харди Р. Н. Гомеостаз. М.: Мир, 1986. 177 с.
25. Чароян О. Г. Саморегуляция вегетативных функций организма. М.: Наука, 348 с.
26. Child J. A., Morgan G. J., Davies F.E. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma // J Med. 2003. № 38. Pp. 175–183.
27. Dexter T. M., Allen T. D., Lajtha L. G. Conditions controlling the proliferation of haemopoietic stem cells in vitro // J Cell Physiol. 1977. № 91. Pp. 335–344.

28. Domen J., Weissman I. L. Self-renewal, differentiation or death: regulation and manipulation of hematopoietic stem cell fate // *Mol Med Today*. 1999. № 5. Pp. 201–208.
29. Evidence for parathyroid failure in magnesium deficiency / C. S. Anast, J. M. Mohs, S. L. Kaplan, T. W. Bruns // *Science*. 1972. № 177. Pp. 606–608.
30. Gandy K. L., Domen J., Aguila H. CD–TCR and CD–TCR cells in whole bone marrow facilitate the engraftment of hematopoietic stem cells across allogeneic barriers // *Immunity*. 1999. № 10. Pp. 67–76.
31. Geven W. B., Monnens L. A., Willems J. L. Isolated autosomal recessive renal magnesium loss in two sisters // *Clin Genet*. 1987. № 32. Pp. 398–402.
32. Groenestege W. M., Thebault S., Impaired basolateral sorting of the pro-EGF causes isolated renal hypomagnesemia // *J Clin Invest*. 2007. № 117. Pp. 2260–2267.
33. Haioun C., Lepage E., Gisselbrecht C. Benefit of autologous bone marrow transplantation over sequential chemotherapy in poor-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma: updated results of the prospective study LNH87–2 // *J Clin Oncol*. 1997. № 15. Pp. 131–137.
34. Harousseau J. L., Cahn J. Y., Pignon B. Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia // *Blood*. 1997. № 90. Pp. 278–286.
35. Loffing J., Loffing-Cueni D., Hegyi I. B. Thiazide treatment of rats provokes apoptosis in distal tubule cells // *Kidney Int*. 1998. № 50. Pp. 1180–1190.
36. Moffett-King A. Natural killer cells // *Nat Rev Immunol*. 2002. № 2. Pp. 56–63.
37. Morrison S. J., Uchida N., Weissman I.L. Биология гемопоэтических стволовых клеток // *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1995. № 11. Pp. 35–71.
38. Nijenhuis T., Vallon V., Loffing J. Downregulation of Ca²⁺ and Mg²⁺ transport proteins in the kidney explains tacrolimus (FK506)-induced hypercalciuria and hypo-magnesemia // *Clin. Invest*. 2005. № 115. Pp. 1651–1658.

39. Paunier L., Radde I. C., Kooh S. W. Primary hypomagnesemia with secondary hypocalcemia in an infant // *Pediatrics*. 1968. № 41. Pp. 385–402.
40. Ploemacher R. E. Stem cells: characterization and measurement // *Baillieres Clin Haematol*. 1997. № 10. Pp. 429–444.
41. Quamme G. A., De Rouffignac C. Epithelial magnesium transport and regulation by the kidney // *Front Biosci*. 2000a. № 142. Pp. 694–711.
42. Quamme G. A., De Rouffignac C. Renal magnesium handling // *The Kidney*. 2000b. Vol. 2. Pp. 1711–1729.
43. Reya T., Morrison S. J., Clarke M.F. Stem cells, cancer, and cancer stem cells // *Nature*. 2001. № 414. Pp. 105–111.
44. Ryan M. F., Barbour H. Magnesium measurement in routine clinical practice // *Ann Clin Biochem*. 1998. № 35. p. 449–459.
45. Schwoch G., Passow H. Preparation and properties of human erythrocyte ghosts // *Mol Cell Biochem*. 1973. № 2. Pp. 197–218.
46. Shalev H., Phillip M., Galil A. Clinical presentation and outcome in primary familial hypomagnesemia // *Arch Dis Child*. 1998. № 78. Pp. 127–130.
47. Shils M. E. Experimental Human magnesium depletion // *Medicine*. 1969. 685 p.
48. Simon D. B., Nelson-Williams C., Bia M. Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter // *Natural Genetics*. 1996. № 12. Pp. 24–30.
49. Saris, N. E., Mervaala E., Karppanen H. Magnesium. An update on physiological, clinical and analytical aspects // *Clin Chim Acta*. 2000. № 294. Pp. 1–26.
50. Satur C. M., Stubington S. R., Jennings A. Magnesium flux during and after open-heart operations in children // *Ann Thorac Surg*. 1995. № 59. Pp. 921–927.
51. Voets T., Nilius B., Hoefs S. TRPM6 forms the Mg^{2+} influx channel involved in intestinal and renal Mg^{2+} absorption // *J Biol Chem* 2004. № 279. Pp. 19–25.

52. Wright D. E., Wagers A. J., Gulati A. P. Physiological migration of hematopoietic stem and progenitor cells // *Science*. 2001. № 294. Pp. 1933–1936.