

О.А. ГРОМОВА<sup>1</sup>, д.м.н., профессор, И.Ю. ТОРШИН<sup>2</sup>, к.ф.-м.н., Н.И. ТАПИЛЬСКАЯ<sup>3</sup>, д.м.н., профессор

<sup>1</sup> Ивановская государственная медицинская академия

<sup>2</sup> Московский физико-технический институт, Долгопрудный

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

# ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ МАГНИЙ-ЗАВИСИМЫХ БЕЛКОВ

## В СИСТЕМЕ «МАТЬ – ПЛОД – РЕБЕНОК»

Системно-биологический анализ более 700 магний-зависимых белков протеома человека указал на 7 важнейших направлений действия магния: (1) эмбриональное развитие, (2) энергетический метаболизм, (3) процессы передачи сигналов от рецепторов, (4) неврологические роли, (5) поддержка структуры соединительной ткани, (6) сердечно-сосудистые и (7) иммунологические роли. Дефицит магния во время беременности будет способствовать развитию пороков развития (скелетных дефектов, рахита, грыж диафрагмы, лицевых пороков, краниосиностаза, нарушений строения ретины и зрения, брахидактилий). В раннем возрасте дефицит магния ассоциирован с синдромом внезапной смерти, в дошкольном и подростковом возрасте приводит к нарушениям функции мышц, что в случае миокарда ассоциировано с нарушениями сократимости желудочков сердца и аритмией. Для дефицита магния также характерны митохондриальные нарушения, гиперинсулинемия, нарушения структуры кожи и ее придатков, опухолевые заболевания и заболевания, ассоциированные с нарушениями энергетического метаболизма (в т. ч. гипопаратиреоз и анемия). Эффекты дефицита магния у плода и у детей существенно утяжеляются на фоне недостаточности витамина В6 (пиридоксин). Результаты протеомного анализа позволили указать на соответствующие молекулярно-физиологические механизмы синергизма магния и пиридоксина. В целом результаты настоящего анализа указывают на весьма обширные области для коррекции недостаточности магния и пиридоксина с целью профилактики и терапии широкого круга заболеваний, начиная с периода внутриутробного развития и раннего детства до подросткового периода.

**Ключевые слова:** протеом, системная биология магния, беременные, плод, дети, подростки, профилактика дефицита магния, пиридоксин (витамин В6).

О.А. GROMOVA<sup>1</sup>, I.YU. TORSHIN<sup>2</sup>, N.I. TAPILSKAYA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ivanovo State Medical Academy

<sup>2</sup> Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudny

<sup>3</sup> Saint Petersburg State Pediatric Medical University

### PROTEOMIC ANALYSIS OF MAGNESIUM-DEPENDENT PROTEINS AND CHILDREN'S HEALTH

Systems biology analysis of over 700 magnesium-dependent proteins in human proteome shown that these proteins affect (1) the embryonic development, (2) energy metabolism, (3) signal transduction processes from receptors, (4) neurological function, (5) support of connective tissue structure, (6) cardiovascular and (7) immunological roles. Magnesium deficiency during pregnancy will stimulate development of congenital malformations (skeletal defects, rickets, hernia of the diaphragm, facial defects, craniosynostosis, structural disorders of the retina and vision, brachydactyly). Magnesium deficiency at an early age is associated with sudden death syndrome in preschool and adolescence leads to impaired function of skeletal muscles and myocardium. Magnesium deficiency is also characterized by mitochondrial disorders, hyperinsulinemia, disorders of the skin structure and its appendages, tumors and diseases associated with impaired energy metabolism (including hypoparathyroidism and anemia). Effects of magnesium deficiency in children significantly heavier on the background of lack of vitamin B6 (pyridoxine). The results of proteomic analysis enable to point out the relevant molecular and physiological mechanisms of synergy between magnesium and pyridoxine. Overall, the results of the analysis indicate a very extensive area for the correction of magnesium and pyridoxine deficiency for the prevention and treatment of a wide range of diseases, from the period of fetal development and early childhood through adolescence.

**Keywords:** proteomics, systems biology, magnesium, embryo, children, adolescents, prevention of magnesium deficiency, pyridoxine (vitamin B6).

## ВВЕДЕНИЕ

Взгляд на магний как специфическое средство, используемое преимущественно для лечения судорог у недоношенных детей [1], устарел по меньшей мере на 50 лет. Воздействие иона магния на организм ребенка вовсе не ограничивается профилактикой судорог, и приводимые в настоящей работе результаты анализа белков протеома человека указывают на широкий спектр возможных применений препаратов магния в педиатрии. Данная

работа продолжает серию работ по системно-биологическим анализам белков и генов, участвующих в реализации эффектов микронутриентов; в одной из первых работ были представлены результаты системно-биологического анализа эффектов витамина D [2].

Магний является одним из четырех важнейших электролитов организма. Обязательное комплексообразование ионов  $Mg^{2+}$  с молекулой АТФ, необходимое для синтеза и осуществления функций АТФ, указывает на фундаментальное значение иона магния для поддержки мета-

болизма всех типов клеток. Однако молекулярно-биологические свойства магния далеко не исчерпываются описанными выше ролями.

Известно, например, что ион  $Mg^{2+}$  принципиально необходим для ингибирования глутаматных NMDA-рецепторов, метаболизма катехоламинов, поддержания ритма сердца и многих других процессов [3]. Данные роли магния осуществляются посредством специфического связывания ионов  $Mg^{2+}$  с определенными белками протеома человека и имеют важное значение для комплексной оценки физиологического воздействия магния на здоровье ребенка.

В период активного роста организма плода и ребенка магний необходим для полноценного развития тканей. Недостаток магния у детей проявляется задержкой роста, слабым развитием мышц. С точки зрения ЦНС, дефицит магния негативно влияет на формирование памяти и познавательной деятельности. При недостаточной обеспеченности магнием дети страдают неусидчивостью, переходящей в гиперактивность, с трудом удерживают внимание [4]. Клинические проявления дефицита магния относительно не специфичны и включают в себя в основном коликообразные боли в животе, которые могут сопровождаться головной болью, тиком, онемением конечностей и/или болями в мышцах, отмечается беспокойный сон.

В нескольких клинических исследованиях было показано, что различные органические соли магния вызывают уменьшение этих симптомов у детей [5]. При этом самым достоверным подтверждением диагноза «Е61.2 Недостаточность магния» является исчезновение симптомов после перорального применения органических препаратов магния [6].

Возникновение описанных выше и многих других симптомов дефицита магния у детей [3] связано с нарушением специфических взаимодействий иона магния с белками протеома, которые отвечают за широкий круг биологических ролей. Проведенные нами поиски по базам данных протеома человека (NCBI PROTEIN, EMBL, UNIPROT, Human Proteome Map (HPM), BIOCYC-HUMAN и др.) показали, что в протеоме человека представлено не менее 720 белков, активность которых, так или иначе, регулируется уровнями  $Mg^{2+}$  (рис. 1).

Ион магния влияет на структуру и функцию геномной ДНК, РНК, белков протеома и некоторых метаболитов. Однако взаимодействие магния с ДНК и РНК неспецифично, т. к.  $Mg^{2+}$  необходимы для стабилизации структуры двойной спирали любых ДНК или РНК. За исключением отдельных метаболитов, прежде всего АТФ, взаимодействие ионов  $Mg^{2+}$  с метаболитами также малоспецифично. В то же время взаимодействие  $Mg^{2+}$  с белками протеома носит высокоспецифичный характер и затрагивает обширный круг биологических функций и соответствующих заболеваний.

Таким образом, анализ биологических ролей магний-зависимых белков протеома позволяет провести комплексную системно-биологическую оценку всех возможных биологических ролей магния и, соответственно, описать спектр клинических применений препаратов магния у детей. В настоящей работе представлены результаты такого системно-биологического анализа.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

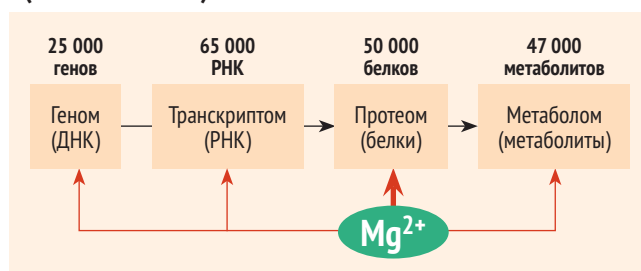
Список из 720 магний-зависимых белков анализировался посредством метода функционального связывания [7] на основе имеющихся аннотаций генома человека, представленных в базах данных NCBI PROTEIN, EMBL, UNIPROT и HPM. Анализ функциональных взаимосвязей – одна из информационных технологий современной биоинформатики. Данный метод основан на системном рассмотрении органов, тканей, клеток и их мельчайших компонентов – белков, ДНК, метаболитов (в т. ч. витаминов и других микронутриентов) в рамках фундаментальных основ молекулярной биологии и биохимии. Так, на основе информации определенной геномной ДНК синтезируется соответствующий белок, выполняющий строго очерченный круг специфических функций. Как врожденные мутации гена, так и дефициты кофакторов белка (магния, кальция, определенных витаминов и др.) будут приводить к падению активности тех или иных белков и проявлению той или иной специфической клинической симптоматики (рис. 2).

Метод анализа функциональных взаимосвязей, соединяя данные различных уровней информации (данные о моногенных заболеваниях, биохимические данные о кофакторах белков, данные о клеточных ролях белков, симптоматика и критерии диагностики заболеваний и т. д.), позволяет систематически рассмотреть все возможные биологические роли магния. В целом при использовании метода анализа функциональных взаимосвязей (рис. 2) каждый белок протеома человека представлен строкой в таблице, включающей такие описания белка/гена, как:

- аминокислотная последовательность белка,
- список эссенциальных кофакторов белка (в т. ч. с указанием потребности ионов магния для активности рассматриваемого белка),
- список моногенных заболеваний, связанных с полной или частичной потерей активности этого белка и соответствующего гена,
- список клинических симптомов рассматриваемых моногенных заболеваний,
- список клеточных функций белка (по БД Gene Ontology, GO и др.),
- список отдельных симптомов заболеваний, список диагнозов по МКБ-10 и другая информация из баз данных.

Далее в полученном списке выделяются гены, соответствующие белкам из списка Mg-зависимых белков, и

**Рисунок 1. Ион магния в постгеномной перспективе (геном человека)**



на основании статистических критериев проводятся последующие анализы частот встречаемости биологических ролей этих белков. Для статистической обработки результатов исследования использовались методы математической статистики, включающие расчет числовых характеристик случайных величин, проверку статистических гипотез с использованием параметрических и непараметрических критериев, корреляционного и дисперсионного анализа. Сравнение прогнозируемых и наблюдаемых частот встречаемости исследуемых признаков проводилось с помощью критерия  $\chi$ -квадрат, критерия Вилкоксона – Манна – Уитни и теста Стьюдента. Для статистической обработки материала использовались прикладная программа STATISTICA 6.0 и электронные таблицы Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенного анализа среди известных 50 057 белков протеома человека было выделено 20 180 аннотированных белков протеома (т. е. белков, для которых известны хотя бы основные биологические роли). Среди 20 180 белков 720 являлись магний-зависимыми: для данных белков имелась либо информация, подтверждающая связывание одного или нескольких ионов  $Mg^{2+}$  соответствующим белком, либо экспериментальная информация о воздействии, пусть даже и косвенном, ионов  $Mg^{2+}$  на активность данного белка. Рассмотрение всех этих белков в рамках настоящей статьи не представляется возможным. Поэтому рассмотрим различные способы системно-биологической группировки (кластеризации) этих белков.

Используя методы анализа метрических конфигураций [8–10], мы провели кластерный анализ всех магний-зависимых белков в соответствии с их биохимическими функциями. Биохимические функции белков извлекались из аннотаций биологических ролей белков в соответствии с международной номенклатурой GO (Gene Ontology, см. далее). В качестве метрической функции расстояния использовалась лямбда-метрика [7], позволя-

ющая оценить «расстояние» между биохимическими ролями произвольной пары белков. Результаты кластерного анализа представлены на рисунке 3.

Приведены примеры конкретных белков в каждом кластере. Кластер I «Серин/треониновые протеинкиназы», кластер II «АТФазы», кластер III «Ферменты метаболизма и ремонта ДНК», кластер IV «Mg-зависимые ионные каналы», кластер V «Аденилатциклазы и другие белки цАМФ-зависимой внутриклеточной передачи сигнала от рецепторов», кластер VI «Интегрины и другие белки межклеточного взаимодействия».

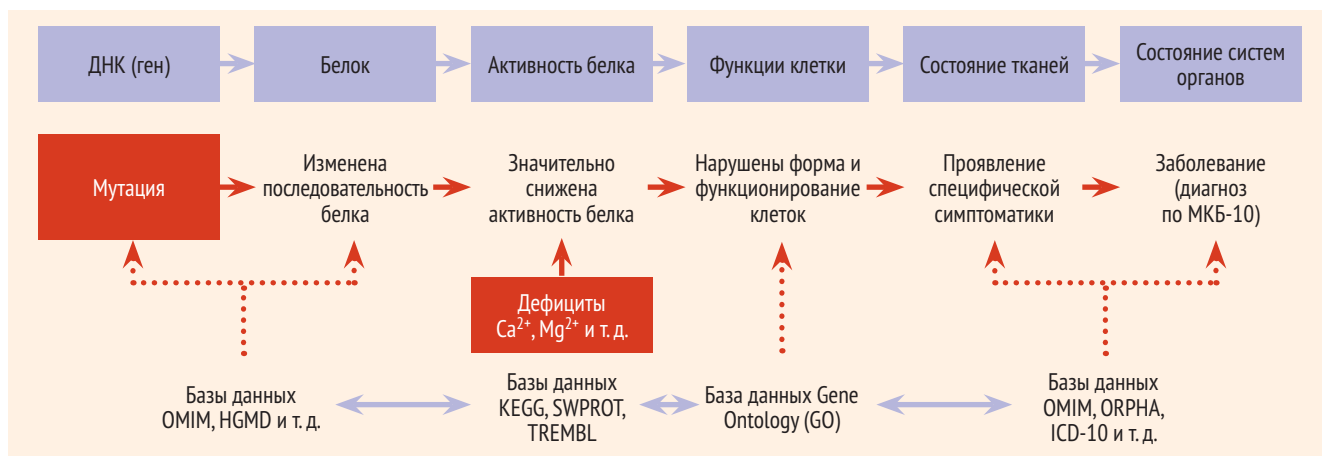
Результаты кластерного анализа показывают, что почти половина белков с известными биохимическими ролями не относится к какому-либо кластеру. Иначе говоря, значительная пропорция магний-зависимых белков выполняет существенно различные биохимические роли.

В то же время было выделено 6 кластеров магний-зависимых белков с достаточно близкими биохимическими ролями: кластер I «Серин/треониновые протеинкиназы», кластер II «АТФазы», кластер III «Ферменты метаболизма и ремонта ДНК», кластер IV «Mg-зависимые ионные каналы», кластер V «Аденилатциклазы и другие белки цАМФ-зависимой внутриклеточной передачи сигнала от рецепторов», кластер VI «Интегрины и другие белки межклеточного взаимодействия». Эти группы белков обсуждаются более подробно далее.

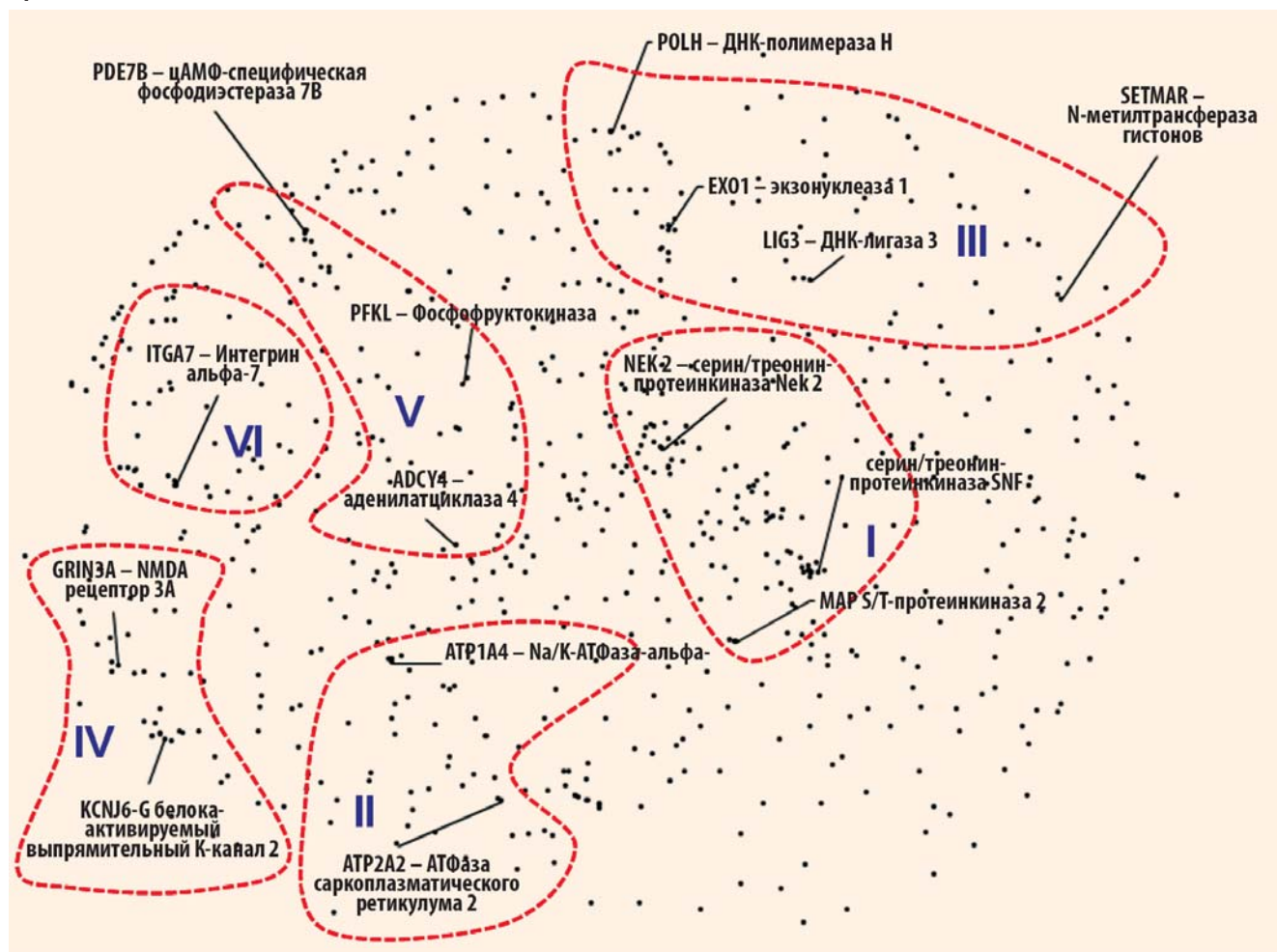
Результаты анализа частоты встречаемости ключевых слов в текстовых аннотациях магний-зависимых белков (рис. 4) подтверждают результаты кластерного анализа. Действительно, наиболее частыми ключевыми словами были именно «серин/треониновая киназа», «аденилатциклаза», «ионные каналы», «АТФазы», «фермент биосинтеза и ремонта ДНК», «интегрины» и др.

Анализ биологических ролей Mg-зависимых белков, аннотированных в соответствии с международной номенклатурой Gene Ontology (GO), позволил установить биологические роли белков, специфично ассоциированные именно с эффектами магния (табл. 1). Специфичность ассоциации этих биологических ролей именно с магнием подразумевает, что эти биологические роли встречались

**Рисунок 2. Основы системно-биологического подхода к анализу Mg-зависимых белков**



**Рисунок 3.** Результаты кластеризации магний-зависимых белков протеома человека в соответствии с их биохимическими ролями



достоверно чаще именно в подмножестве магний-зависимых белков, чем в произвольном подмножестве белков протеома человека. Можно сказать, что в осуществление этих биологических активностей вносят существенный вклад именно ионы магния, а не какие-либо другие ионы.

Анализ перечисленных в *таблице 1* биологических ролей Mg-зависимых белков показал, что ион магния характеризуется разносторонним специфическим действием на различные системы организма. В целом можно выделить 7 основных направлений воздействия магния на организм:

■ **Энергетический метаболизм** («Связывание АТФ», «Митохондрии», «Митохондриальный матрикс», «Метаболизм глюкозы», «Ответ на глюкозу», «Глюконеогенез»), необходимый для поддержки мембранного потенциала всех видов клеток.

■ **Процессы передачи сигналов от рецепторов внутрь клеток** («Сигнал от рецепторов через S/T-киназы», «Связывание ГТФ», «Метаболизм инозитолфосфатов», «Сигнальный путь Wnt», «Аденилатциклазы», «цАМФ», «Гуанилатциклазы», «Тирозинкиназы»), принципиально необходимые для эмбрионального развития и поддержания функции сердечно-сосудистой, иммунной и нервной

**Рисунок 4.** Результаты анализа текстовых аннотаций магний-зависимых белков



**Таблица 1. Биологические роли Mg-зависимых белков, специфически ассоциированные с действием иона магния**

Биологическая роль	$n_1$	$v_1$	$v_0$	О.Ш.	$P(\chi^2)$
Связывание АТФ	306	0,4256	0,0612	6,96	3,2E-289
Серин/треонин (S/T) протеинкиназы	120	0,1669	0,0113	14,82	3,7E-218
Митохондрии	86	0,1196	0,0598	2,00	2,92E-09
Связывание гуанозинтрифосфата (ГТФ)	56	0,0779	0,0166	4,70	2,24E-30
Митохондриальный матрикс	39	0,0542	0,0149	3,64	2,09E-14
Сигнал от рецепторов через S/T-киназы	28	0,0389	0,0013	29,60	5,34E-79
Апоптоз	27	0,0376	0,0239	1,57	-
Деление клеток	24	0,0334	0,0161	2,08	0,005388
Репарация ДНК	23	0,0320	0,0090	3,55	3,46E-08
Транспорт ионов калия в клетку	22	0,0306	0,0003	96,89	8,66E-97
Репликация ДНК	22	0,0306	0,0066	4,65	1,11E-11
Регуляция воспаления	20	0,0278	0,0182	1,53	-
Врожденный иммунный ответ	19	0,0264	0,0203	1,30	-
Регуляция электрической активности сердца	18	0,0250	0,0019	13,21	2,99E-29
Структура внеклеточного матрикса	18	0,0250	0,0091	2,77	0,00034
Постсинаптическая мембрана	17	0,0236	0,0098	2,40	0,004881
Внутриутробное развитие эмбриона	16	0,0223	0,0084	2,64	0,00183
Рост нейритов	16	0,0223	0,0112	1,99	0,061274
Ответ на окислительный стресс	14	0,0195	0,0045	4,35	7,73E-07
Регулирование активности NF-kb	14	0,0195	0,0061	3,19	0,000287
Визуальное восприятие	14	0,0195	0,0097	2,00	0,086879
Функция почек	13	0,0181	0,0010	18,08	7,31E-27
Ответ на гипоксию	13	0,0181	0,0085	2,13	0,062628
Ангиогенез	13	0,0181	0,0108	1,67	-
Сарколема миоцитов	12	0,0167	0,0041	4,07	2,32E-05
Развитие сердца	12	0,0167	0,0085	1,96	-
Активность кальциевых каналов	11	0,0153	0,0028	5,38	3,69E-07
Метаболизм инозитолфосфатов	10	0,0139	0,0019	7,34	2,51E-09
Взаимодействие «клетка – матрикс»	10	0,0139	0,0043	3,26	0,002865
Развитие мозга	10	0,0139	0,0096	1,44	-
Синаптическая передача сигнала	10	0,0139	0,0115	1,21	-
Метаболизм глюкозы	9	0,0125	0,0028	4,40	0,000143
Чувствительность клеток к глюкозе	9	0,0125	0,0032	3,96	0,000583
Активация тромбоцитов	9	0,0125	0,0054	2,33	-
Коагуляция крови	9	0,0125	0,0085	1,48	-
Биосинтез холестерина	8	0,0111	0,0015	7,55	9,92E-08
Связывание NAD	8	0,0111	0,0016	6,82	6,23E-07
Регулирование АД	8	0,0111	0,0031	3,64	0,003606
Сигнальный путь Wnt	8	0,0111	0,0088	1,27	-
Активность NMDA-рецепторов	7	0,0097	0,0001	184,98	1,68E-34
Глюконеогенез	7	0,0097	0,0019	5,00	0,00029

Примечание. Биологические роли приведены в соответствии с номенклатурой Gene Ontology (GO).  $n_1$  – число Mg-зависимых белков с данной биологической ролью,  $v_1$  – частота встречаемости биологической роли в выборке Mg-зависимых белков,  $v_0$  – общая частота встречаемости биологической роли во всем протеоме, О.Ш. – отношение шансов ( $v_1/v_0$ ),  $P(\chi^2)$  – достоверность ассоциации. Биологические роли в таблице упорядочены в соответствии со значением числа Mg-зависимых белков ( $n_1$ ).

систем, а также для осуществления биологических эффектов многочисленных гормонов, в т. ч. инсулина и репродуктивных белковых гормонов (ГНВГ, ЛГ, ФСГ).

■ **Эмбриональное развитие** («Внутриутробное развитие эмбриона», «Апоптоз», «Деление клеток», «Репарация ДНК», «Репликация ДНК», «Ангиогенез», «Развитие мозга», «Развитие сердца»).

■ **Структура соединительной ткани** («Структура внеклеточного матрикса», «Взаимодействие «клетка – матрикс»»).

■ **Сердечно-сосудистые роли** («Функция почек», «Импорт ионов калия», «Сарколема», «Активность кальциевых каналов», «Регуляция электрической активности сердца», «Регулирование АД», «Биосинтез холестерина», «Активация тромбоцитов», «Коагуляция крови»).

■ **Иммунологические роли** («Воспалительная реакция», «Врожденный иммунный ответ», «Регулирование активности NF-kb», «Ответ на окислительный стресс», «Ответ на гипоксию»).

■ **Неврологические роли** («Синаптическая передача сигнала», «Постсинаптическая мембрана», «Рост нейритов», «Визуальное восприятие», «Активность NMDA-рецепторов»).

Анализ биологических ролей отдельных белков в соответствии с GO-номенклатурой указывает на отдельные биологические процессы, для нормофизиологического протекания которых необходимы адекватные уровни магния как внутри клеток, так и во внеклеточной среде. Нормофизиологическое протекание всех этих биологических процессов является обязательным условием для здоровья плода и роста организма ребенка.

Следует также отметить, что многие из этих биологических процессов зависят от обеспеченности организма не только магнием, но и витамином B6. Например, такие биологические роли магния, как «регуляция воспаления», «биосинтез холестерина», «метаболизм глюкозы» и др., не могут быть реализованы в организме без участия B6-зависимых ферментов, в которые входит кофактор пиридоксаль-5-фосфат [3]. B6-зави-

симые ферменты участвуют в регуляции уровней гомоцистеина – независимого фактора воспаления [11]. Витамин В6 улучшает переработку глюкозы и профилактирует развитие инсулинрезистентности, нарушений липидного профиля и эндотелиальной дисфункции [12]. Существование витамин-В6-зависимых пороков развития указывает на важность витамина В6 для ролей «внутриутробное развитие эмбриона» и «развитие мозга» [13].

Представляет интерес оценить, как ионы магния могут влиять на более «крупные» фрагменты метаболизма – внутриклеточные сигнальные каскады, биосинтетические каскады и другие элементы реактома человека (реактом – совокупность всех химических реакций, протекающих в клетках и вне клеток данного организма). Данный анализ был проведен с использованием аннотаций белков протеома человека, приведенных в базе данных REACTOME (рис. 5, табл. 2).

Анализ с использованием данных реактома человека существенно детализирует молекулярные механизмы осуществления упоминаемых выше биологических эффектов магния. С учетом реактомных данных молекулярные механизмы осуществления приведенных выше 7 основных направлений воздействия магния на организм детализируются следующим образом.

■ **Энергетический метаболизм** – помимо участия в митохондриальном синтезе АТФ, магний принимает участие в важнейших реактомных путях метаболизма углеводов: активации протеинкиназы-А и сигнальном каскаде рецептора глюкагона, регулировании секреции инсулина, гликолизе.

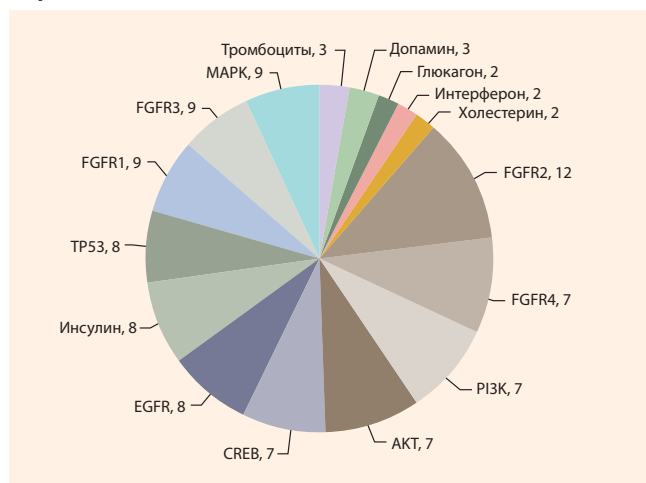
■ **Процессы передачи сигналов от рецепторов внутрь клеток** осуществляются при участии сигнальных G(s), G(i)- и G(z)-белков (которые, в частности, управляют активацией G-белок-управляемых калиевых каналов), сигнальных каскадов с участием ионов кальция, PLC (фосфолипаза C), фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, инозитолфосфатов (каскады RAF/MAPK/MEKK/ AKT/PI3K) и фосфорилирования CREB.

**Таблица 2. Реактомные роли Mg-зависимых белков, специфически ассоциированные с действием иона магния**

Элементы реактома	$n_1$	$v_1$	$v_0$	О.Ш.	$P(\chi^2)$
Ионные каналы, АТФазы	36	0,0501	0,0010	50,07	1,2E-129
Внутриклеточная передача сигнала G(s) белками	30	0,0417	0,0059	7,02	1,6E-26
Внутриклеточная передача сигнала G(i) белками	19	0,0264	0,0117	2,26	0,005934
Внутриклеточная передача сигнала G(z) белками	16	0,0223	0,0016	14,09	2,14E-27
Взаимодействие интегрин с внеклеточной матрицей и другими клетками	14	0,0195	0,0038	5,14	1,55E-08
Регулирование антионкогена TP53 посредством фосфорилирования	13	0,0181	0,0040	4,52	1,05E-06
Каскады киназ RAF/MAPK/MEKK/AKT/PI3K	12	0,0167	0,0054	3,11	0,001471
Сигнальный каскад фактора роста Sonic Hedgehog (Shh)	12	0,0167	0,0023	7,37	3,24E-11
Регуляция вазопрессином почечного гомеостаза через аквапорины	12	0,0167	0,0016	10,23	1,45E-15
Активация протеинкиназы-А (рецепторглюкагона)	11	0,0153	0,0003	48,45	6,68E-39
Гликолиз	10	0,0139	0,0012	12,01	5,42E-15
Сигнальный каскад рецептора глюкагона	10	0,0139	0,0008	16,52	2,39E-19
Активация G-белок-управляемых калиевых каналов	10	0,0139	0,0008	17,62	2,79E-20
Регулирование секреции инсулина	8	0,0111	0,0013	8,46	1,11E-08
Передача сигнала через фосфолипазу C	8	0,0111	0,0004	26,43	4,32E-21
Передача сигнала ионами Ca <sup>2+</sup>	7	0,0097	0,0027	3,56	0,009857
Синтез фосфатидилхолина	7	0,0097	0,0007	14,23	4,16E-12
Синтез фосфатидилэтаноламина	7	0,0097	0,0003	30,83	4,26E-20
Протеогликаны внеклеточного матрикса	6	0,0083	0,0036	2,30	-
Ремонт коротких обрывов ДНК	6	0,0083	0,0029	2,83	-
Сигнальный путь тромбина через протеиназа-активированные рецепторы	6	0,0083	0,0014	6,10	0,000115
Фосфорилирование CREB через активацию кальмодулин-киназы (CaMKII)	6	0,0083	0,0005	17,62	3,34E-12
Сигнальный путь интерферона-гамма	5	0,0070	0,0085	0,82	-
Регуляция выделения синтезируемых в тромбоцитах стимуляторов агрегации тромбоцитов	5	0,0070	0,0053	1,32	-
Сигнальный путь фактора ангиогенеза VEGF	5	0,0070	0,0030	2,32	-
Метаболизм гликофинголипидов	5	0,0070	0,0019	3,67	0,035967
Сигнальный путь интерлейкина-1	5	0,0070	0,0016	4,40	0,010223
Метаболизм длинноцепочечных жирных кислот посредством CoA	5	0,0070	0,0011	6,61	0,000266
Сигнальный путь тромбоксана	5	0,0070	0,0009	7,34	8,47E-05
Сигнальные пути факторов роста фибробластов (FGFR2, FGFR3, FGFR1, FGFR4, EGFR)	5	0,0070	0,0009	7,34	8,47E-05
Биосинтез холестерина	5	0,0070	0,0007	9,44	3,96E-06
Регуляция NMDA-рецепторов	5	0,0070	0,0006	11,01	4,86E-07
Фосфорилирование CREB через аденилатциклазы	5	0,0070	0,0001	66,06	1,01E-19
Регуляция адгезии тромбоцитов к коллагену	4	0,0056	0,0006	9,61	4,79E-05

Примечание.  $n_1$  – число Mg-зависимых белков с данной реактомной ролью,  $v_1$  – частота встречаемости реактомной роли в выборке Mg-зависимых белков,  $v_0$  – общая частота встречаемости в протеоме, О.Ш. – отношение шансов ( $v_1/v_0$ ),  $P(\chi^2)$  – достоверность ассоциации. Реактомные роли в таблице упорядочены в соответствии со значением числа Mg-зависимых белков ( $n_1$ ).

**Рисунок 5. Аннотации магний-зависимых белков протеома человека в базе данных REACTOME**



■ **Эмбриональное развитие** поддерживается ионами магния при участии описанных выше сигнальных каскадов, в т. ч. при участии регулирования апоптоза посредством белка TP53, сигнального каскада Sonic Hedgehog (участвующего в процесса раннего развития и формирования левой/правой симметрии тела, прорезывании зубов, разделении пальцев на руках и на ногах), ремонта ДНК, сигнального пути фактора ангиогенеза VEGF и сигнального пути Wnt, а также с помощью молекулярных механизмов воздействия магния на соединительную ткань. Важно отметить, что более 100 магний-зависимых белков являются плацентарными белками [14].

■ **Поддержка структуры соединительной ткани** ионами магния осуществляется через реактомные пути рецепторов факторов роста фибробластов (FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4), фактора роста эпидермиса EGFR, взаимодействие интегринов с внеклеточной матрицей и с другими клетками, биосинтеза протеогликанов внеклеточного матрикса.

■ **Сердечно-сосудистые роли** магния осуществляются за счет поддержки цикла сокращения/расслабления сарколеммы мышц, регуляции активности кальциевых и калиевых каналов, регуляции вазопрессинном почечного гомеостаза через аквапорины, поддержки метаболизма холестерина и длинноцепочечных жирных кислот посредством кофермента-А, регуляции свертывания крови (дегрануляция тромбоцитов, сигнальный путь тромбина через протеиназа-активированные рецепторы, сигнальный путь тромбосана, адгезии тромбоцитов к коллагену).

■ **Иммунологические роли** – ионы магния проявляют противовоспалительный эффект за счет регулирования активности NF- $\kappa$ B, сигнального пути интерферона-гамма и сигнального пути интерлейкина-1.

■ **Неврологические роли** магния осуществляются при участии иона  $Mg^{2+}$  в синаптической передаче сигнала с участием допамина, NMDA-рецепторов, в многочисленных сигнальных путях опосредования эффектов других нейротрансмиттеров (сигнальных G(s)-, G(i)- и G(z)-белков, ионов кальция, фосфолипазы C, которые участвуют в осуществлении эффектов катехоламинов, серотонина, до-

памина и др.). Нарушение активности этих белков будет приводить к дефициту внимания и гиперактивности, коморбидных дефициту магния [4, 15–17]. При этом при дефиците витамина B6 будет наблюдаться дефицит нейротрансмиттеров, который проявится у детей в задержке развития, у детей и взрослых – в дисфункции периферической нервной системы, гипотония и гипокинезия [18]. Нейротрофические роли магния осуществляются при участии сигнальных путей МАРК/МЕКК/ PI3K и фосфорилирования белка CREB через активацию кальмодулин-киназы и ряда аденилатциклаз.

Очевидно, что приведенные выше молекулярные механизмы действия магния весьма обширны и не могут быть детально проанализированы в рамках настоящей статьи. Рассмотрим более подробно один пример: воздействие магния на структуру соединительной ткани посредством участия в осуществлении эффектов факторов роста фибробластов – основной группы ростовых факторов, регулирующих рост и структурирование соединительнотканной основы паренхимы всех систем органов.

**Факторы роста фибробластов (ФРФ)** индуцируют деление клеток соединительной ткани [19]. Соединительная ткань, которая составляет около 50% всей массы тела и скрепляет воедино все ткани организма, формируется с первых дней жизни плода. Механически слабая соединительная ткань – основа морфофункциональных изменений не только при сколиозе, остеопорозе и других патологиях хрящевой и костной ткани, но и при сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваниях. Важно также отметить, что многие исследователи рассматривают нарушения формирования соединительной ткани (дисплазия соединительной ткани – ДСТ) как клиническую форму первичного магниевого дефицита, а использование препаратов магния рассматривается многими как средство патогенетического лечения ДСТ [20].

ДСТ у детей и подростков характеризуется широчайшим диапазоном проявлений. Детский и подростковый сколиоз, рахит, плоскостопие, нарушения фиксации органов (гастроптоз, нефроптоз, колоноптоз), пролапс митрального клапана, аневризмы сосудов, варикозное расширение вен, миопия, стрии в пубертате – все эти патологические состояния, так или иначе, связаны с патологией соединительной ткани. Если у взрослых дисплазия соединительной ткани чаще проявляется как аневризмы, гастроптозы, варикозное расширение вен, то у детей дисплазия проявляется пупочной, паховой или диафрагмальной грыжей, мальформациями легких, болезнью гиалиновых мембран и даже аномалиями развития (дивертикулы, гастрошизис, пороки сердца, незаращение дужек позвонков). Роль дефицита магния в синдроме внезапной смерти у детей известна педиатрам более 40 лет [1, 21].

Настоящий анализ показал, что магний участвует в осуществлении внутриклеточной передачи сигнала от всех четырех видов рецепторов ФРФ – FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, которые связывают белки ФРФ [22] и активируют процессы роста соединительной ткани организма ребенка. Сигнальный каскад рецепторов ФРФ достаточно сложен и включает взаимодействие десятков ферментов

и других белков. Активность многих из этих ферментов зависит от определенных нутриентных кофакторов, прежде всего магния, цинка и кальция. Дефициты магния и других соответствующих нутриентов будут способствовать нарушениям активности сигнального каскада ФРФ-рецепторов и, следовательно, нарушениям структуры соединительной ткани, т. к. молекулы ФРФ важны для дифференцировки, миграции, выживания и апоптоза клеток соединительной ткани внутренних органов, хряща и костей [23].

Результаты настоящего анализа показали, что магний вовлечен в многочисленные сигнальные каскады (фактор роста фибробластов, каскад рецепторов ФНО, трансформирующий фактор роста и др.), сбалансированная активность которых принципиально важна для поддержания соединительнотканной структуры кости. Дефицит магния приводит к нарушению активности этих сигнальных каскадов, что, в свою очередь, является причиной усиления процессов воспаления, преждевременного апоптоза остеобластов, усиленного деления деградирующую ткань остеокластов и, соответственно, приводит к усилению резорбции кости и снижению минеральной плотности кости (рис. 6). Пиридоксин, являясь фармакокинетическим и фармакодинамическим синергистом иона  $Mg^{2+}$ , не только способствует усиленному всасыванию магния, но и проявляет самостоятельные эффекты в поддержке структуры соединительной ткани кости [24].

Выше был описан весьма обширный спектр «специфических» биологических ролей белков протеома человека, активность которых прямо или косвенно зависит от концентраций ионов магния в тканях организма. Совокупность столь разнородных ролей обуславливает не менее широкий спектр заболеваний, специфически ассо-

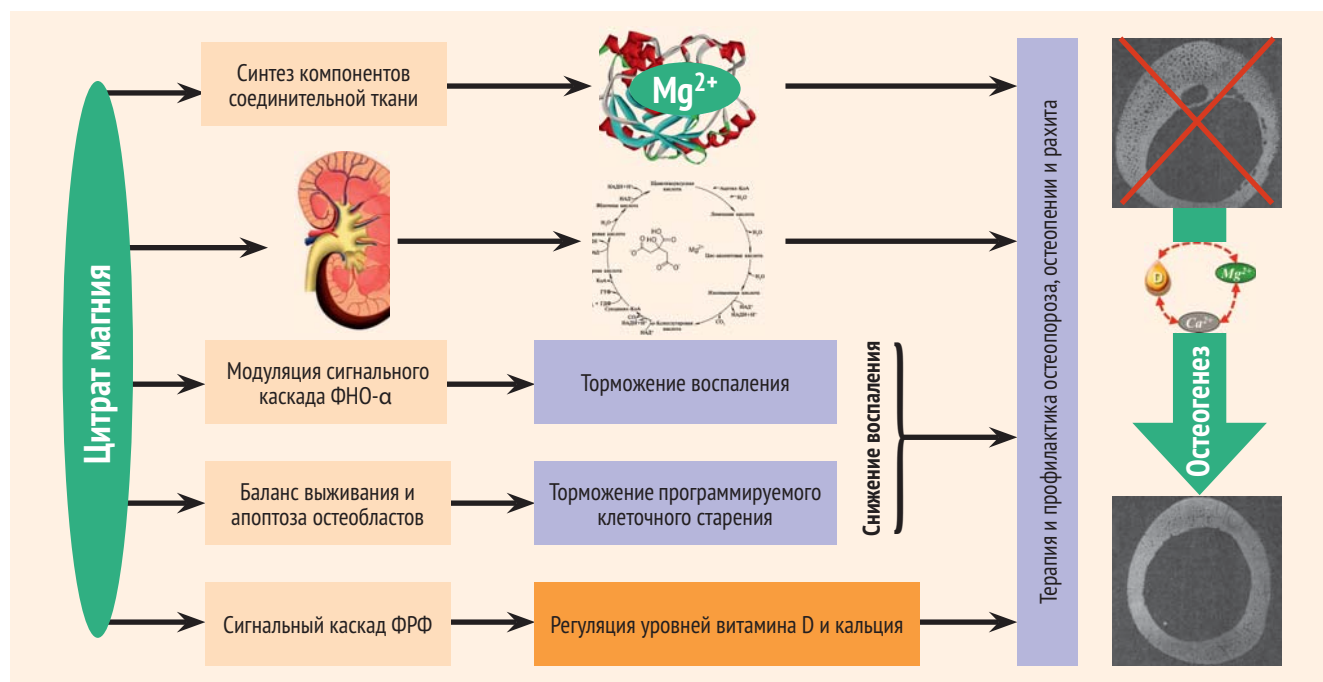
циированных с нарушениями активации магний-зависимых белков протеома человека (табл. 3, рис. 7).

Подчеркнем, что приведенные в таблице 3 симптомы и заболевания ассоциированы с нуклеотидными дефектами генов, кодирующих обсуждаемые магний-зависимые белки протеома (см. «Материалы и методы»). Поскольку биологическая активность этих белков в существенной мере зависит от обеспеченности организма магнием, то дефицит магния будет приводить к симптоматике, схожей с проявлениями генетических дефектов.

Так, дефицит магния во время беременности будет способствовать развитию скелетных дефектов, рахита, брахидактилии, краниосиностозов, нарушений строения ретины и зрения. В любом возрасте дефицит магния, как известно, приводит к нарушениям функции мышц (прежде всего, судороги) и миопатии, что в случае миокарда ассоциировано с желудочковыми нарушениями и аритмией. Для дефицита магния также характерны митохондриальные нарушения, гиперинсулинемия, нарушения пигментации кожи и ксеродерма (рис. 7).

Анализ данных симптомов с учетом данных, представленных в базах данных OMIM, ORPHA, ICD-10, позволил выделить диагнозы по МКБ-10, специфически ассоциированные с магний-зависимыми белками протеома человека (рис. 8). Дефицит магния ассоциирован с пороками развития (Q87. Другие уточненные синдромы врожденных аномалий [пороков развития], затрагивающих несколько систем, Q04. Другие врожденные аномалии [пороки развития] мозга, Q80. Врожденный ихтиоз); опухолевыми заболеваниями (Z80. Злокачественное новообразование в семейном анамнезе); заболеваниями, ассоциированными с нарушениями энергетического метаболизма (E74. Другие нарушения обмена углеводов, E72. Другие нару-

**Рисунок 6.** Молекулярно-физиологические механизмы воздействия магния на структуру и функцию костной ткани





**Таблица 3. Генетически обусловленные заболевания в номенклатуре МКБ-10 и соответствующие симптомы, специфически ассоциированные с Mg-зависимыми белками**

Заболевание/симптоматика	$n_1$	$v_1$	$v_0$	О.Ш.	$P(\chi^2)$
Z80 (Злокачественное новообразование в семейном анамнезе)	25	0,0341	0,0002	221,23	5,08E-43
Аритмогенный эффект	22	0,0307	0,0003	99,55	1,92E-34
G72 (Другие миопатии)	15	0,0205	0,0006	33,18	3,58E-16
Нарушения пигментации кожи	34	0,0478	0,0020	23,82	7,16E-32
Ксеродерма	34	0,0478	0,0026	18,22	5,01E-27
E83 (Нарушения минерального обмена)	49	0,0683	0,0046	14,75	2,26E-33
E20 (Гипопаратиреоз)	20	0,0273	0,0019	14,75	2,55E-13
Гиперинсулинемия	30	0,0410	0,0042	9,83	2,65E-14
Рахит	20	0,0273	0,0031	8,85	1,09E-08
D55 (Анемия вследствие ферментных нарушений)	20	0,0273	0,0034	8,04	6,31E-08
L67 (Аномалии цвета волос и волосяного стержня)	15	0,0205	0,0028	7,37	1,63E-05
E79 (Нарушения обмена пуринов и пиримидинов)	20	0,0273	0,0037	7,37	2,9E-07
Желудочковые нарушения	25	0,0341	0,0059	5,82	5,65E-07
Q80 (Врожденный ихтиоз)	20	0,0273	0,0059	4,66	0,000259
H35 (Другие болезни сетчатки)	20	0,0273	0,0065	4,21	0,000856
G31 (Другие дегенеративные болезни нервной системы)	15	0,0205	0,0062	3,32	0,036588
Митохондриальные нарушения	34	0,0478	0,0164	2,92	0,00118
E74 (Другие нарушения обмена углеводов)	30	0,0410	0,0145	2,82	0,005239
Нарушения функции мышц	59	0,0819	0,0319	2,56	9,3E-05
Брахидактилия	39	0,0546	0,0218	2,51	0,003905
Q82 (Другие уточненные врожденные аномалии кожи)	30	0,0410	0,0173	2,37	0,032859
G71 (Первичные поражения мышц)	59	0,0819	0,0355	2,31	0,000797
Скелетные дефекты	32	0,0444	0,0193	2,30	0,031498
Q87 (Другие уточненные синдромы врожденных аномалий [пороков развития], затрагивающих несколько систем)	128	0,1775	0,0839	2,11	1,04E-06
E72 (Другие нарушения обмена аминокислот)	30	0,0410	0,0194	2,11	0,08949
Дефекты зрения	27	0,0375	0,0182	2,06	-
Краниосиностозы	20	0,0273	0,0176	1,55	-
Нарушения сетчатки	34	0,0478	0,0322	1,48	-
Q04 (Другие врожденные аномалии [пороки развития] мозга)	25	0,0341	0,0238	1,44	-
E75 (Нарушения обмена сфинголипидов и другие болезни накопления липидов)	20	0,0273	0,0235	1,16	-

Примечание.  $n_1$  – число Mg-зависимых белков, соответствующих заболеванию/симптому,  $v_1$  – частота встречаемости заболевания/симптома в выборке Mg-зависимых белков,  $v_0$  – общая частота встречаемости в протеоме, О.Ш. – отношение шансов ( $v_1/v_0$ ),  $P(\chi^2)$  – достоверность ассоциации. Заболевания/симптомы в таблице упорядочены в соответствии со значением О.Ш., т. е. от наиболее специфических для магния к наименее специфическим.

шения обмена аминокислот, E79. Нарушения обмена пуринов и пиримидинов, E75. Нарушения обмена сфинголипидов и другие болезни накопления липидов, E20. Гипопаратиреоз, D55. Анемия вследствие ферментных нарушений); дисфункцией мышц (G71. Первичные поражения мышц, G72. Другие миопатии); заболеваниями глаз (H35. Другие болезни сетчатки); нарушениями структуры кожи и ее придатков (Q82. Другие уточненные врожденные аномалии кожи, L67. Аномалии цвета волос и волосяного стержня, например локальная седина волос у детей, G31. Другие дегенеративные болезни нервной системы).

По данным экспериментальных и клинических исследований, нарушения обмена магния действительно связаны с повышенным риском формирования пороков развития. Например, неотъемлемым элементом обмена магния в организме является Mg-транспортирующий канал TRPM6 (переходный рецепторный потенциал меластатина, подтип 6), обеспечивающий транспорт магния и абсорбцию магния в дистальных извитых канальцах нефрона [25].

Низкая или отсутствующая экспрессия/активность магниевого канала TRPM6 нарушает развитие эмбриона. Мутации гена ассоциированы с семейной гипомагниемией. Без лечения специальными препаратами магния дети с мутациями гена TRPM6 характеризуются задержкой умственного и физического развития, а также страдают от судорог [26, 27]. Фундаментальные исследования показали, что экспрессия TRPM6 регулируется рядом гормонов (эпидермальный фактор роста, эстрогены и др.), внутриклеточными концентрациями  $Mg^{2+}$ , pH (ацидоз снижает экспрессию гена) и АТФ [28]. Определенные препараты (циклоспорин, тиазидные диуретики) вызывают снижение экспрессии и активности TRPM6, приводя к гипомагниемии во внутриутробном периоде.

Следует подчеркнуть, что многие из этих факторов, негативно влияющих на экспрессию и активность магниевого канала TRPM6, также ассоциированы и с повышенным

**Рисунок 7. Симптомы, специфически ассоциированные с магнием-зависимыми белками протеома человека**



риском пороков развития. В эксперименте делеции Mg-транспортирующего канала TRPM6 приводят к формированию тяжелых пороков развития: дефектов нервной трубки, экзэнцефалии, расщелин позвоночника [29]. В клинической практике тератогенные эффекты циклоспорина, тиазидных диуретиков, аминогликозидов, фторхинолонов хорошо известны. Напомним, что все эти препараты вызывают глубокий дефицит магния в организме [30].

### О КОМПЕНСАЦИИ ДЕФИЦИТОВ МАГНИЯ И ПИРИДОКСИНА

Дефицит магния у детей приводит к слабости скелетных мышц, дисплазии соединительной ткани, нарушениям осанки, пролапсу митрального клапана, раннему развитию гипертонии и перебоев в сердце. Дети с низкой обеспеченностью магнием страдают астеническими состояниями, избыточной массой тела, нарушениями липидного обмена, инсулинрезистентностью [3].

Проводимые в России крупномасштабные исследования указывают на необходимость проведения коррекции недостаточной обеспеченности магнием и витамином B6 в различных возрастных группах. Так, в результате многоцентрового скринингового исследования было установлено, что недостаточная обеспеченность витамином B6 встречалась более чем у половины обследованных [8]. При проведении коррекции недостаточности магния следует стремиться к достижению значений уровня магния в плазме крови более 0,83 ммоль/л (именно этот уровень соответствует достоверному снижению риска коморбидных дефициту магния патологий [8, 9]), а уровня магния в эритроцитах – более 1,65 ммоль/л [31].

Несмотря на большое количество продуктов – концентраторов магния и пиридоксина, компенсировать имеющиеся у ребенка дефициты магния и пиридоксина только за счет диеты не представляется возможным. Формально продукт может содержать значительное коли-

чество магния. Например, различные виды морских водорослей содержат магний в количестве 600...1000 мг/100 г, что соответствует 400...600 мг/100 г растворимого магния. Тем не менее анализ съедобных японских водорослей показал, что, несмотря на высокое содержание магния, биодоступность магния из водорослей сравнима с биодоступностью магния из оксида магния (т. е. менее 5%) [32]. Низкая биодоступность магния из продуктов – концентраторов магния связана, во-первых, с наличием в этих продуктах фитатов или оксалатов и, во-вторых, с состоянием секреции соляной кислоты желудочного сока у конкретного ребенка. Высококалорийная диета с избытком насыщенных жиров и соли, недостатком клетчатки, инулинов и продуктов – доноров позитивной микробиоты (лактобактерий и др.) не обеспечивает ребенка магнием, провоцирует провоспалительный ответ и нарушает иммунную защиту.

Поэтому компенсация дефицита магния должна быть комплексной. На фоне рекомендаций по оптимизации диеты (исключение «синтетической» высококалорийной, жирной пищи, включение продуктов – доноров магния с низким содержанием фитатов, дополнение диеты клетчаткой и инулин-содержащими продуктами и т. д.) следует также обеспечить прием достаточного количества элементного магния в составе органических солей (лактата, цитрата, пироглутамата магния и т. д.). Детям в возрасте одного года и старше для компенсации дефицита магния дают питьевой раствор пироглутамата магния Магне В6 (ампулы по 10 мл, 100 мг элементного магния, 10 мг пиридоксина). С 6-летнего возраста также может использоваться таблетированная форма Магне В6 (в 1 таблетке 48 мг элементного магния в форме лактата магния и 5 мг пиридоксина). Коррекция недостаточной обеспеченности детей магнием должна осуществляться в достаточных дозах в рамках курсового приема препаратов, содержащих магний и пиридоксин.

**Рисунок 8. Заболевания в номенклатуре МКБ-10, специфически ассоциированные с магнием-зависимыми белками протеома человека**



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Долгое время считалось, что ионы магния регулируют активность всего 300 белков, включая ферменты. Подобная точка зрения существенно устарела: проведенный нами системно-биологический анализ протеома человека указал на наличие по меньшей мере 720 магний-зависимых белков. Эти белки могут быть условно подразделены на 7 основных групп по основному направлению действия (энергетический метаболизм, процессы передачи сигналов от рецепторов, эмбриональное развитие, поддержка структуры соединительной ткани, сердечно-сосудистые, иммунологические и неврологические роли). Активность большинства магний-зависимых белков начинается с внутриутробного периода развития и очень важна для прохождения этапов развития в детстве. Поэтому дефицит магния нарушает программу развития плода и ребенка, а затем приводит к формированию многочисленных хронических патологий.

Среди достаточно интересных результатов настоящей работы является установление, например, того факта, что

ионы магния принципиально необходимы для осуществления биологических эффектов таких важнейших сигнальных путей, как Wnt, и сигнальных путей, регулирующих активность транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B. Новейшие данные показывают, что нарушения регуляции активности NF- $\kappa$ B ассоциированы с укорочением длительности жизни [33]. Нарушения активности сигнального пути Wnt, который также содержит магний-зависимые белки, ассоциированы с развитием нейродегенеративных заболеваний [34].

Одним из важных результатов настоящей работы является то, что недостаточная активность магний-зависимых белков достоверно сопряжена с риском злокачественных новообразований в семейном анамнезе (диагноз Z80 по МКБ-10). Кроме того, дефицит магния во время беременности будет способствовать развитию пороков развития (скелетных дефектов, рахита, брахидактилии, краниосиностозов, нарушений строения сетчатки и зрения). Без компенсации дефицита магния у детей будет наблюдаться обширнейший круг отклонений развития и заболеваний, которые были рассмотрены в настоящей статье в ходе анализа магний-зависимых белков протеома человека.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных, СПб., 2001, 219.
2. Громова О.А., Торшин И.Ю., Спиричев В.Б. Полногеномный анализ сайтов связывания рецептора витамина D указывает на широкий спектр потенциальных применений витамина D в терапии. *Медицинский совет*, 2016, 01: 12-22.
3. Torshin I.Y., Gromova O.A. Magnesium and pyridoxine: fundamental studies and clinical practice. *Nova Science Publ.*, 2011. 196 p.
4. Starobrat-Hermelin B, Koziellec T. The effects of magnesium physiological supplementation on hyperactivity in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). Positive response to magnesium oral loading test. *Magnes Res*, 1997, 10: 149-56.
5. Paupe JR, Ducroux T. La magnesotherapie chez l'enfant spasmophile. A propos de 292 observations. *Med Nutr*, 1980, 16: 37-42.
6. Baerlocher K. Magnesium in der paediatric. *Paediatrica*, 1998, 9(5). <http://www.swisspaediatrics.org/paediatrica/vol9/n6/mg-ge.htm>.
7. Torshin I.Yu. Sensing the change from molecular genetics to personalized medicine. *Nova Biomedical Books*, NY, USA, 2009, in "Bioinformatics in the Post-Genomic Era" series, ISBN 1-60692-217-0.
8. Громова О.А., Калачева А.Г., Торшин И.Ю. с соавт. Недостаточность магния – достоверный фактор риска коморбидных состояний: результаты крупномасштабного скрининга магниевого статуса в регионах России. *Фарматека*, 2013, 6(259): 115-29.
9. Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиманова О.А., Гоголева И.В. с соавт. Анализ взаимосвязи между обеспеченностью магнием и риском соматических заболеваний у россиянок 18–45 лет методами интеллектуального анализа данных. *Эффективная фармакология. Акушерство и гинекология*, 2014, 2: 10-23.
10. Torshin I.Y. On metric spaces arising during formalization of problems of recognition and classification. Part 2: density properties. *Pattern Recognition and Image analysis*, 2016, 3.
11. Lan X, Dang SN, Zhao YL, Yan H, Yan H. Meta-analysis on effect of combined supplementation of folic acid, vitamin B12 and B6 on risk of cardio-cerebrovascular diseases in randomized control trials. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 2016 Jul, 37(7): 1028-34. doi: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.07.024.
12. Liu Z, Li P, Zhao ZH, Zhang Y, Ma ZM, Wang SX. Vitamin B6 Prevents Endothelial Dysfunction, Insulin Resistance, and Hepatic Lipid Accumulation in Apoe (-/-) Mice Fed with High-Fat Diet. *J Diabetes Res*, 2016, 2016: 1748065. doi: 10.1155/2016/1748065. Epub 2015 Dec 31.
13. Gu Q1, Li Y, Cui ZL, Luo XP. Homocysteine, folate, vitamin B12 and B6 in mothers of children with neural tube defects in Xinjiang, China. *Acta Paediatr*, 2012 Nov, 101(11): e486-90. doi: 10.1111/j.1651-2227.2012.02795.x. Epub 2012 Aug 24.
14. Сухих Г.Т., Торшин И.Ю., Громова О.А., Рудаков К.В. Молекулярные механизмы регуляции магнием плацентарных белков. *Росс. Вестн. Акуш. Гинекол.*, 2008, 6: 9-16.
15. Громова О.А., Буртsev Е.М., Fedotova L.E. Rola magnezu w leczeniu dysfunkcji mozgowej u dzieci. *Zjazdu Towarzystwa Magnezologicznego im. Prof. Dr. Juliana Aleksandrowicza Poznan*, 1998 15-16.10., 111: 92-98.
16. Mousain-Bosc M, Roche M, Rapin J, Bali JP. Magnesium VitB6 intake reduces central nervous system hyperexcitability in children. *J Am Coll Nutr*, 2004, 23(5): 545S-548S.
17. Nogovitsina OR, Levitina EV. Effect of MAGNE-B6 on the clinical and biochemical manifestations of the syndrome of attention deficit and hyperactivity in children. *Eksp Klin Farmakol*, 2006, 69(1): 74-77.
18. Pons R, Ford B, Chiriboga CA, Clayton PT, Hinton V, Hyland K, Sharma R, De Vivo DC. Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: clinical features, treatment, and prognosis. *Neurology*, 2004 Apr 13, 62(7): 1058-65.
19. Moursi AM, Winnard PL, Winnard AV, Rubenstrunk JM, Mooney MP. Fibroblast growth factor 2 induces increased calvarial osteoblast proliferation and cranial suture fusion. *Cleft Palate Craniofac J*, 2002 Sep, 39(5): 487-96.
20. Нечаева Г.И., Викторова И.А. Дисплазия соединительной ткани: терминология, диагностика, тактика ведения пациентов. Омск: Бланком, 2007. 188 с.
21. Викторова И.А. Методология курации пациентов с дисплазией соединительной ткани семейным врачом в аспекте профилактики ранней и внезапной смерти: дис. ...док. мед. наук. Омск, 2005. 432 с.
22. Zhang X, Ibrahim OA, Olsen SK, Umemori H, Mohammadi M, Ornitz DM. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. The complete mammalian FGF family. *J Biol Chem*, 2006 Jun 9, 281(23): 15694-700.
23. Prié D, Friedlander G. Reciprocal control of 1,25-dihydroxyvitamin D and FGF23 formation involving the FGF23/Klotho system. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010 Sep, 5(9): 1717-22.
24. 25961321 Dai Z, Koh WP. B-vitamins and bone health—a review of the current evidence. *Nutrients*, 2015 May 7, 7(5): 3322-46. doi: 10.3390/nu7053322.
25. Xi Q, Hoenderop JG, Bindels RJ. Regulation of magnesium reabsorption in DCT. *Pflugers Arch*, 2009, 458(1): 89-98.
26. Jalkanen R, Pronicka E, Tyynismaa H, Hanauer A, Walder R, Alitalo T. Genetic background of HSH in three Polish families and a patient with an X;9 translocation. *Eur J Hum Genet*, 2006, 14(1): 55-62.
27. 26039815 Salam RA, Zuberi NF, Bhutta ZA. Pyridoxine (vitamin B6) supplementation during pregnancy or labour for maternal and neonatal outcomes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Jun 3;(6):CD000179. doi: 10.1002/14651858.CD000179.pub5.
28. van der Wijst J, Hoenderop JG, Bindels RJ. Epithelial Mg2+ channel TRPM6: insight into the molecular regulation. *Magnes Res*, 2009, 22(3): 127-132.
29. Walder RY, Yang B, Stokes JB. Mice defective in Trpm6 show embryonic mortality and neural tube defects. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(22): 4367-75.
30. Campo S, Breda E, Di Girolamo M. Hypomagnesaemia on antibiotic therapy. *Postgrad Med J*, 1988 Apr, 64(750): 336-7.
31. Громова О.А., Калачева А.Г., Торшин И.Ю., Гришина Т.П., Семенов В.А. Диагностика дефицита магния. Концентрации магния в биосубстратах в норме и при различной патологии. *Кардиология*, 2014, 10: 63-71.
32. Nakamura E, Yokota H, Matsui T. The in vitro digestibility and absorption of magnesium in some edible seaweeds. *J Sci Food Agric*, 2012, 92(11): 2305-9.
33. Bernal GM, Wahlstrom JS, Crawley CD, Cahill KE, Pytel P, Liang H, Kang S, Weichselbaum RR, Yamini B. Loss of Nfkb1 leads to early onset aging. *Aging (Albany NY)*, 2014 Nov, 6(11): 931-43.
34. Libro R, Bramanti P, Mazzon E. The role of the wnt canonical signaling in neurodegenerative diseases. *Life Sci*, 2016 Jun 28. pii: S0024-3205(16)30380-0.