



UNIVERZITET CRNE GORE

Medicinski fakultet - Studijski program farmacija

SEMINARSKI RAD
Poremećaji metabolizma magnezijuma

Podgorica, decembar 2017.

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. Magnezijum i njegova uloga u organizmu	1
2. Homeostaza magnezijuma.....	2
3. Poremećaji metabolizma magnezijuma.....	2
3.1. Hipomagnezemija.....	2
3.1.1. <i>Uzročni mehanizmi</i>	3
3.1.2. <i>Klinička slika</i>	3
3.1.3. <i>Dijagnoza</i>	4
3.1.4. <i>Liječenje</i>	4
3.2. Hipermagnezemija.....	5
3.2.1. <i>Uzročni mehanizmi</i>	5
3.2.2. <i>Klinička slika</i>	5
3.2.3. <i>Dijagnoza</i>	6
3.2.4. <i>Liječenje</i>	6
4 Procjena statusa magnezijuma u organizmu- Izazov kliničkoj praksi	6
Zaključak.....	7
Prilozi.....	8
Literatura.....	13

UVOD

Osnovni cilj rada je da što vjerodostojnije i sveobuhvatnije prikažemo poremećaje metabolizma magnezijuma. Smatramo potrebnim istaći da je riječ o širokom području istraživanja, različitim pristupima u razumijevanju ovog pitanja, te smo pokušali, na nama najprihvatljiviji način, pozivajući se na relevantnu literaturu, sistematizovati i predstaviti rezultate do kojih smo došli.

1. Magnezijum i njegova uloga u organizmu

Magnezijum je koesencijalni element tj. neophodan je za pravilno funkcionisanje ljudskog organizma. Predstavlja drugi glavni intracelularni katjon [poslije kalijuma] i četvrti najzastupljeniji jon u organizmu [pored natrijuma, kalijuma i kalcijuma].

Magnezijum ima brojne fiziološke uloge u organizmu, koje se grubo mogu podijeliti na intracelularne i ekstracelularne [1,2].

Intracelularni magnezijum je kofaktor u više od 300 enzimskih reakcija u kojima učestvuje u aktivaciji enzima, prometu energije u organizmu, održavanju membranskog potencijala u nervnim i mišićnim ćelijama, reguliše nivo jona kalcijuma u citoplazmi glatkog, srčanog i skeletnog mišića, reguliše kontrakciju glatkog i poprečno-prugastog mišića, pomaže apsorpciju kalcijuma u GIT-u, kalijuma u bubregu, održava građu i funkciju DNK i RNK, reguliše metabolizam glukoze, masti, proteina, učestvuje i u aerobnoj i anaerobnoj proizvodnji energije, sprečava stvaranje kristala u urinu i ispoljava antiagregaciono dejstvo.

Ekstracelularni magnezijum ima ulogu u održavanju električnog potencijala membrane nerava i mišića i reguliše nervno-mišićnu spojnicu.

Magnezijum reguliše rad jonskih kanala na membrani ćelije. On je antagonist kalcijuma.

2. Homeostaza magnezijuma

Smatra se da u tijelu čovjeka prosječne mase od 70 kg ima oko 25 g (od 20 do 28 g) magnezijuma. U intracelularnom prostoru se nalazi oko 99% magnezijuma, a u ekstracelularnom prostoru, primarno u serumu i eritrocitima, oko 1% [3]. Od ukupne količine magnezijuma u organizmu oko 50-60% se nalazi u kostima, a svega 0,3% u serumu [4].

S obzirom da se samo 0,3% ukupnog tjelesnog magnezijuma nalazi u serumu, koncentracija ukupnog magnezijuma u serumu ne reflektuje nužno status njegovih ukupnih tjelesnih zaliha [5]. Do danas se niti jedna metoda za određivanje koncentracije magnezijuma ne smatra zadovoljavajućom. Iako se mogu primijeniti ograničenja, koncentracija magnezijuma u serumu se još uvijek koristi kao standard za procjenu statusa magnezijuma kod bolesnika. Za sveobuhvatnu procjenu statusa magnezijuma, potrebni su laboratorijski testovi i klinička procjena simptoma magnezijumovog deficita. Kod zdravih osoba, koncentracija magnezijevog seruma se usko zadržava unutar fiziološkog raspona. Normalan referentni raspon magnezijuma u krvnom serumu je 0,76-1,15 mmol/l [6].

Homeostaza tj. ravnoteža magnezijuma u organizmu zavisi od interakcije crijeva odgovornih za unos Mg^{2+} iz hrane, kosti, koja skladišti Mg^{2+} u svom hidroksi-apatitnom obliku, i bubrega, koji regulišu Mg^{2+} ekskreciju urina. Paneli predstavljaju dnevnu količinu unosa Mg^{2+} i izlučivanje. Naime, svakodnevno crijeva apsorbuju 120 mg i izlučuju 20 mg Mg^{2+} , što rezultira neto apsorpcijom od 100 mg. U bubregu se dnevno 2400 mg Mg^{2+} filtrira pomoću glomerula, od kojih se 2300 mg ponovno apsorbuje iz tubula bubrega. To rezultira neto izlučivanjem od 100 mg, koja odgovara apsorpciji crijeva. Kosti i mišići predstavljaju najvažnija skladišta Mg^{2+} [Prilog 1] [7].

3. Poremećaji metabolizma magnezijuma

Poremećaji metabolizma magnezijuma se ispoljavaju kao hipomagnezemija (nedostatak magnezijuma i hipermagnezemija (višak magnezijuma).

3.1. Hipomagnezemija

Hipomagnezemija se definiše kao koncentracija magnezijuma u krvnom serumu < 0.75 mmol/l. Obično hipomagnezemija nije uočena iako je već prisutna, a njeno značenje se uveliko potcjenjuje, jer se sam magnezijum prerijetko određuje. Prevalenca u opštoj populaciji se kreće u rasponu od 2,5%-15% [8].

3.1.1 Uzročni mehanizmi

Nedostatak magnezijuma može proizaći iz smanjenog unosa uzrokovanog lošom prehranom ili parenteralnim infuzijama bez magnezijuma, od smanjene apsorpcije i povećanog gastrointestinalnog gubitka, kao što su hronični proliv, malapsorpcija ili resekcija crijeva/zaobilaznica. Nedostaci se takođe mogu podstaknuti povećanim izlučivanjem magnezijuma u nekim medicinskim uslovima kao što su šećerna bolest, bubrežni tubularni poremećaji, hiperkalcemija, hipertireoza ili aldosteronizam ili tokom prekomjernog dojenja ili upotrebe diuretika [Prilog 2] [3]. Komparativna redistribucija magnezijuma kod bolesti kao što je akutni pankreatitis može biti uzrok akutne hipomagnezemije. Osim toga, postoje i nekoliko naslijeđenih oblika bubrežne hipomagnezemije [3]. Među tim sindromima posebno se ističu Gitelmanov i Barterov sindrom. Primarni defekt kod Gitelmanovog sindroma jeste mutacija u Na-Cl kotransporteru distalnog kanalića nefrona. Karakteriše ga pretjerani gubitak kalijuma i magnezijuma putem mokraće, te posljedičnom hipokalijemijom i hipomagnezemijom.

Od pet varijanti Bartterovog sindroma, samo klasični Bartterov sindrom ili tip III povezan je s hipomagnezemijom. Radi se o nasljednoj autosomno-recesivnoj bolesti, gdje se poremećaj ogleda na nivou debelog dijela uzlaznog kraka Henleove petlje.

Poseban dejstvo na gubitak magnezijuma i pojavu hipomagnezemije mogu imati razni lijekovi, uključujući antibiotike, hemoterapijske agense, diuretike i inhibitore protonske pumpe [Prilog 3] [9].

3.1.2. Klinička slika

Povezanost metabolizma magnezijuma sa drugim elektrolitima često čini poteškoće u razlikovanju simptoma deficita magnezijuma od simptoma deficita drugih elektrolita. Kao rezultat toga, često je teško pripisati specifične kliničke manifestacije isključivo na hipomagnezemiju.

Manifestacije hipomagnezemije mogu uključivati tremor, agitaciju, fascikulaciju mišića, depresiju, srčanu aritmiju i hipokalemiju.

Rani znaci nedostatka magnezijuma uključuju gubitak apetita, mučninu, povraćanje, umor i slabost. Kako se nedostatak magnezijuma pogoršava, jaljaju se ukočenost, peckanje, kontrakcija mišića, grčevi, konvulzije, iznenadne promjene u ponašanju

uzrokovane pretjeranom električnom aktivnošću u mozgu. Mogu se pojaviti abnormalni srčani ritam i koronarni spazmi [Prilog 4] [3].

Od mogućih srčanih komplikacija hipomagnezemije opisani su: „Torsade de pointes“, različite druge aritmije, simptomatski prolaps mitralne valvule, srčani infarkt, promjene na elektrokardiogramu [produženje PR/QT intervala, smanjen napon P talasa, prisustvo U talasa, proširenje QRS kompleksa, te zaravnjenje T talasa].

Torsade de pointes predstavlja jedinstvenu ventrikularnu tahikardiju najčešće uzrokovanu lijekovima koji produžavaju QT interval (npr. Kinidin), ali i neravnotežom elektrolita (hipokalijemija i hipomagnezemija). Ta aritmija može spontano prestati ili degenerirati u ventrikularnu fibrilaciju [Prilog 5][10].

Pri kliničkom pregledu otkrivaju se znaci pridružene hipokalcemije: pozitivni Chvostek - ov i Trousseau -ov znak, karakteristični pokreti prstima opisani kao atetoidna tetanija, fascikulacije (mogu se izazvati udarcem čekića po mišiću) i ponekad konvulzije.

3.1.3. Dijagnoza

Procjena koncentracije magnezijuma u serumu i sakupljanje 24-h uzorka urina za izlučivanje magnezijuma su trenutno najvažniji laboratorijski testovi za dijagnozu hipomagnezemije. Predlaže se test koncentracije drugih jona u krvi, posebno kalijuma, kalcijuma i fosfata, kao i praćenje promjena na elektrokardiogramu.

3.1.4. Liječenje

Blaga hipomagnezemija. Predlaže se liječenje oralno: dostupne su tablete od 1 g magnezijum citrata koji sadrži 150 mg magnezijuma.

Za uspješno nadomještanje rezervoara magnezijuma obično je potrebno uzeti 2-3 tablete na dan. Nuspojava može biti dijareja.

Simptomatska teška hipomagnezemija. O njoj govorimo, kada je koncentracija serumskog magnezijuma niža od 0,5 mmol/l. Predlaže se liječenje intravenozno injekcijama magnezijumovog sulfata: 1g magnezijum sulfata sadrži 98 mg elementarnog magnezijuma.

Pacijentu s teškom hipomagnezemijom s konvulzijama, tetanijom ili aritmijama predlaže se dati infuziju od 1 g magnezijumovog sulfata (8 mmol Mg^{2+}) u 10-20% -tnom rastvoru 5% glukoze ili fiziološkog rastvora na 5-15 minuta, zavisno od težine stanja [11]

3.2. Hipermagnezemija

Hiperarmagnezemija, naročito simptomatska, je rijedak poremećaj. O njoj govorio kada koncentracija magnezijuma u serumu prelazi nivo od $1,1 \text{ mmol/l}$. [6] Prevalenca hipermagnezemije varira od oko 5,7% do oko 9,3% .

3.2.1. Uzročni mehanizmi

Kako bubrezi igraju ključnu ulogu u homeostazi magnezijuma, u naprednoj hroničnoj bubrežnoj bolesti, kompenzacioni mehanizmi počinju postajati neadekvatni i može se razviti hipermagnezemija [12].

Simptomatska hipermagnezemija može biti uzrokovana i prekomjernom oralnom primjenom magnezijumovih soli ili lijekova koji sadrže magnezijum, kao što su neki laksativi i antacidi, posebno kada se upotrebljavaju u kombinaciji kod starijih osoba i kada bubrežna funkcija pada. Dodatno, hipermagnezemija može biti jatrogena, kada se magnezijumov sulfat daje kao infuzija za liječenje profilakse napada u eklampsiji ili pogrešno u visokim dozama za nadopunu magnezijuma.

3.2.2. Klinička slika

Klinički se hipermagnezemija predominantno manifestuje neuromuskularnim i kardiovaskularnim simptomima, odnosno znacima. Simptomi i znaci hipermagnezemije zavise od nivoa serumske koncentracija magnezijuma [Prilog 6][11].

Napadi crvenila, mučnina i/ili povraćanje mogu biti rani znaci hipermagnezemie. Duboki tetivni refleksi mogu biti oslabljeni, ili potpuno ugašeni, jednako kao i disanje, a poremećaji stanja svijesti mogu se kretati od pospanosti do duboke kome.

Kardiovaskularne abnormalnosti se mogu manifestovati u vidu hipotenzije, poremećaja provođenja impulsa, bradikardije pa čak do zastoja rada srca.

3.2.3. Dijagnoza

Hipermagnezemija se dijagnostifikuje pomoću testa krvi za procjenu koncentracije magnezijuma u serumu. Osim magnezijuma, treba odrediti koncentracije drugih jona u krvi, posebno kalijuma, kalcijuma i fosfata. Potrebno je uraditi i EKG test.

3.2.4. Liječenje

Blaga hipermagnezemija. U slučaju dobre funkcije bubrega ne zahtijeva nikakvu drugu mjeru od prestanka unošenja magnezijuma. Izlučivanje magnezijuma urinom može da se poveća davanjem fiziološkog rastvora i furosemida [diuretik koji pomaže izlučivanju mokraće]. Tiazidni diuretici takođe ubrzavaju eliminaciju kao i manitol.

Teška hipermagnezemija. Liječi se kalcijumom koji sprečava efekte magnezijuma: tipičan tretman je preparat kalcijuma 2,5-5 mmol u 5 minuta i.v. [npr.1-2 ampule po 10 ml 10% Ca- glukonata]. Ako se glomerularna filtracija uveliko smanji, za uklanjanje magnezijuma koristi se hemodijaliza s niskim sadržajem magnezijuma u rastvoru za dijalizu [13].

4. Procjena statusa magnezijuma u organizmu- Izazov kliničkoj praksi

Klinički i laboratorijski testovi koji se koriste za procjenu statusa magnezijuma mogu se podijeliti na [14]:

- ✓ Klinička laboratorijska ispitivanja [Ukupna koncentracija Mg u serumu; koncentracija Mg u serumu- jonizovana; dvadesetčetvoročasovno izlučivanje Mg u urinu]
- ✓ Istraživački testovi [Ispitivanje retencije Mg-test opterećenja magnezijumom; ispitivanje ukupne i slobodne koncentracija Mg u ćelijama krvi; ispitivanje koncentracija Mg u tkivima mišića, kostima itd.; određivanje slobodnog magnezijuma u tkivima nuklearnom magnetnom rezonancom (NMR)i različitim izotopnim metodama].

Procjena ukupnih tjelesnih zaliha magnezijuma je složena. U standardnoj kliničkoj praksi danas se određuje ukupni magnezijum u serumu. Pri ovoj procjeni, nepouzdana rezultati mogu nastati iz nekoliko razloga. Povećane koncentracije bilirubina u serumu, kao i prisustvo hemolize eritrocita, prouzrokuje apsorbiciju svjetla, pojavu koju

koristimo pri spektrofotometrijskom određivanju magnezijuma. Nadalje, akutna acidoza dovodi do naglog otpuštanja magnezijuma iz ćelija, te povećanja njegovih vrijednosti u serumu. Bolesnici sa hipoalbuminemijom često imaju snižen ukupan magnezijum u serumu, dok su vrijednosti jonizovanog magnezijuma $[Mg^{2+}]$ u granicama normale.

Mjerenje jonizovanog magnezijuma danas nije standardna praksa. Jedina dokazana prednost određivanja jonizovanog, u odnosu na ukupni magnezijum, jeste njegovo određivanje kod bubrežnih bolesnika.

Dvadesetčetvoročasovno izlučivanje magnezijuma mokraćom tj test mjerenja ekskrecije magnezijuma ima svoje ograničenje, jer količina magnezijuma u urinu nam više govori o izlučenom magnezijumu, nego o njegovoj ukupnoj tjelesnoj zalisi.

Kod testa opterećenja magnezijumom zadržavanje više od 50% apliciranog magnezijuma se uzima kao dokaz njegovog nedostatka, dok pri zadržavanju manjem od 20% unesenog magnezijuma malo je vjerovatno da se radi o njegovom nedostatku. Međutim sama složenost izvođenja testa [venozna aplikacija magnezijuma] čini ga nepraktičnim, a test se izvodi uz pretpostavku uredne funkcije bubrega.

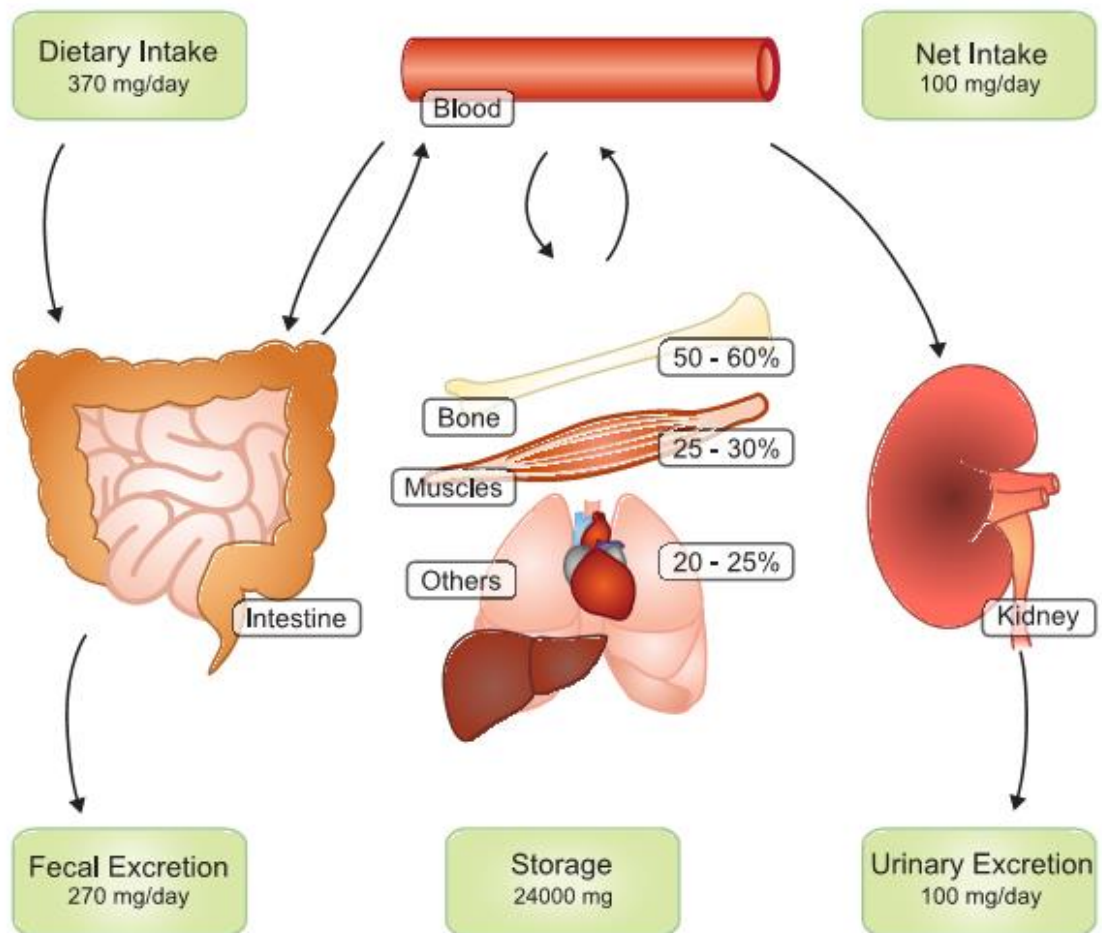
Uopšteno se danas misli kako bi najtačnije bilo mjeriti bioraspodjivost magnezijuma u tijelu njegovim određivanjem u krvnim ćelijama [15], jer dobijene vrijednosti magnezijuma u mononuklearnim ćelijama u krvi, najbolje koreliraju sa njegovom količinom u mišićima. Određivanje koncentracije magnezijuma u eritrocitima, zbog njihovog dugog poluživota, bi mogao biti vrlo dobar pokazatelj njegovog deficita. Određivanje magnezijuma u tkivu biopsijom je obično teže dostupno, etičko je pitanje, a danas i ne postoje komercijalno dostupni testovi za njegovu kliničku primjenu. U novije doba u fokus je došla metoda određivanja pomoću nuklearne magnetne rezonance.

Zaključak

Iz svega navedenog vidljiva je važna uloga magnezijuma u ljudskoj fiziologiji kao i u patofiziologiji raznih bolesti te je nužno osigurati unos adekvatnih količina magnezijuma za održavanje normalne homeostaze u tijelu. Određivanje ukupnog magnezijuma u serumu, te koncentracije magnezijuma u dvadesetčetvoročasovnom urinu, ostaju, iako nesavršeni, najčešće određivani parametri u kliničkoj medicini radi procjene njegovih zaliha u tijelu.

Prilozi

Prilog 1: Homeostaza magnezijuma



Prilog 2. Postavke u kojima se može pojaviti simptomatska hipomagnezija

Smanjen unos:
neuhranjenost parenteralne infuzije bez magnezijuma
Gastrointestinalna malapsorpcija i gubitak:
teška ili produžena (hronična) dijareja
Povećani gubitak putem bubrega:
urođeni ili stečeni tubularni nedostaci Gitelmanov sindrom Bartterov sindrom
Ljekovi
detaljan opis u Tabeli 3.
Endokrini uzroci (preraspodjela):
primarni i sekundarni hiperaldosteronizam sindrom neodgovarajućeg izlučivanja antidiuretičkih hormona (SIADH) šećerna bolest
Ostali uzroci:
stres hronični alkoholizam prekomjerna laktacija teške opekline kardiopulmonalni bajpas (operacija) jatrogeni

Prilog 3. Gubitak magnezijuma uzrokovan lijekovima i hipomagnezemijska

Grupa lijekova (supstanca lijeka)	Mehanizam / Efekat
Aminoglikozidi (npr. Gentamicin, Tobramycin, Amikacin)	povećan gubitak bubrežnog magnezijuma, sekundarni hiperaldosteronizam
Antimikrobni lijekovi (Pentamidin)	povećan gubitak bubrežnog magnezijuma
Antivirusni lijekovi (Foskarnet)	nefrotoksičnost, povećani gubitak renalnog magnezijuma
Beta adrenergički agonisti (npr. Fenoterol, Salbutamol, Teofilin)	povećana ekskrecija bubrežnog magnezijuma, metaboličke abnormalnosti
Hemoterapijska sredstva (npr. Amsacrin, Cisplatin)	nefrotoksičnost, akumulira cisplatin u bubrežnom korteksu, povećava gubitak magnezijuma u bubrežima
Imunosupresivi (Ciklosporin, Sirolimus)	2- do 3-puta povećano izlučivanje magnezijuma putem urina → gubitak magnezijuma
Diuretici Henleove petlje, dugoročno korištenje (npr. Furosemid)	povećan gubitak bubrežnog magnezijuma, sekundarni hiperaldosteronizam
Monoklonsko antitijelo (npr. Cetuximab, Panitumumab)	EGFR blokada u nefrinu ometa aktivni transport magnezijuma → gubitak magnezijuma
Polienski antifungalni lijekovi (Amfotericin B)	nefrotoksičnost
Inhibitori protonske pumpe	gubitak aktivne apsorpcije magnezijuma preko prelaznog receptorskog potencijala, melastatin-6 i -7 (TRPM6 / 7)
Tiazidni diuretici, esp. dugotrajna upotreba (npr. hidroklorotiazid)	povećan gubitak bubrežnog magnezijuma, sekundarni hiperaldosteronizam

Prilog 4. Kliničke i laboratorijske manifestacije hipomagnezemije

Neuromuskularne	Kardio-vaskularne	Centralni nervni sistem	Metabolički (abnormalnosti elektrolita)
slabost	aritmije	depresija	hipokalijemija
tremor	EKG promjene	uzrujanost	hipokalcemija
mišićna faskikulacija		psihoza	
pozitivan Chvosteka znak		nistagmus	
pozitivan Trousseaua znak		konvulzije	
disfagija			

Prilog 5. Torsades de pointes



Prilog 6. Klinična slika hipermağnezemije

serumska koncentracija magnezijuma 1,1–2,1 mmol/l	serumska koncentracija magnezijuma 2,1–2,9 mmol/l
asimptomatsko	mamurluk vrtoglavica mučnina i povraćanje napadi crvenila smanjeni refleksi tetiva
serumska koncentracija magnezijuma 2,9–5 mmol/l	serumska koncentracija magnezijuma > 5 mmol/l
pospanost gubitak refleksa tetiva hipotenzija bradikardija promjene u EKG-u	paraliza apneja koma potpuni AV blok srčani arest

Literatura

1. Long S, Romani AM. Role of Cellular Magnesium in Human Diseases. *Austin J Nutr Food Sci.* 2014;2(10):1051.
2. Gröber U, Schmidt J, Kisters K. Magnesium in Prevention and Therapy. *Nutrients.* 2015;7(9):8199-226.
3. Jahnen-Dechent W, Ketteler M. Magnesium basics. *Clin Kidney J.* 2012; 5(Suppl 1):i3-i14.
4. Volpe SL. Magnesium. In: Erdman JW, Macdonald IA, Zeisel SH, eds. *Present Knowledge in Nutrition.* 10th ed. Ames, Iowa; John Wiley & Sons. 2012:459- 74.
5. Ellin RJ. Assessment of magnesium status for diagnosis et therapy. *Magnesium Reasearch.* 2010;23:194-198.
6. Von Ehrlich E, Barbagallo M, Classen H.G., Guerrero-Romero F, Morren FC, Rodriguez-Moran M, Vierling W, Vormann J, Kisters K The significance of magnesium in insulin resistance, metabolic syndrome, and diabetes- Recommendations of the Association of Magnesium Research e.V. *Diabetol. Stoffwechs.* 2014;9:96–100.
7. de Baaij JH, Hoenderop JG, Bindels RJ. Magnesium in man: Implications for Health and disease, *Physiol Rev.* 2015; 95: 1– 46.
8. Saif MW. Management of hypomagnesemia in cancer patients receiving chemotherapy. *J Support Oncol.* 2008; 6:243-248.
9. Classen HG, Gröber U, Kisters K. Drug-induced magnesium deficiency. *Med. Monatsschr. Pharm.* 2012;35:274–280.
10. Kallergis ME, Goudis AC, Simantirakis NE, Kochiadakis EG, Vardas EP. Mechanisms, Risk Factors, and Management of Acquired Long QT Syndrome: A Comprehensive Review. *Scientific World Journal.* 2012: 212178.
11. Mlinšek, G., Pajek, J. Motnje v presnovi kalcija, fosfata in magnezija. V: Lindič, Jelka (ur.), et al. *Bolezni ledvic.* 3. izd. Ljubljana, Slovensko zdravniško društvo, Slovensko nefrološko društvo, Univerzitetni klinični center, Klinični oddelek za nefrologijo, Interna klinika. 2014; 151-169.
12. Cunningham J, Rodríguez JM, Messa P. Magnesium in chronic kidney disease stages 3 and 4, and in dialysis patients. *Clin Kidney J.* 2012; 5(Suppl 1):i39–i51.

13. Premru, V. Nujna stanja v nefrologiji. V: Lindič, Jelka (ur.), et al. Bolezni ledvic. 3. izd. Ljubljana, Slovensko zdravniško društvo, Slovensko nefrološko društvo, Univerzitetni klinični center, Klinični oddelek za nefrologijo, Interna klinika, 2014; 541-556.
14. Elin JR. Assessment of magnesium status for diagnosis and therapy. *Magnesium Research* 2010; 23 (4): S194-8.
15. Wolf FI, Maier JAM, Nasulewicz A, et al. A. Magnesium and neoplasia: From carcinogenesis to tumor growth and progression or treatment. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2007;458:24-32.