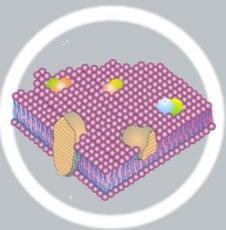


Modulo A3

Le membrane biologiche e i processi di membrana



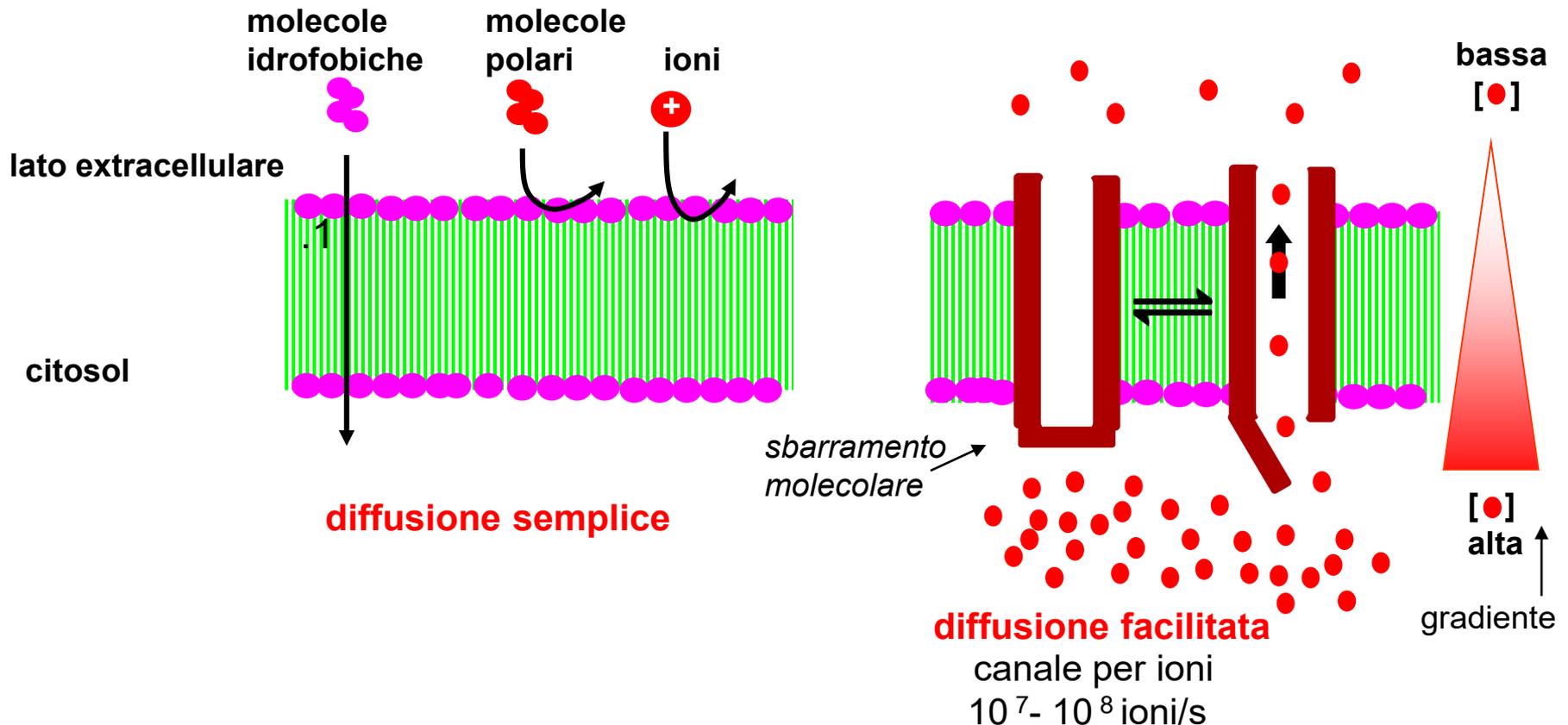
Modulo A3_B
Trasporto transmembrana

2023-24

TRASPORTO TRANSMEMBRANA

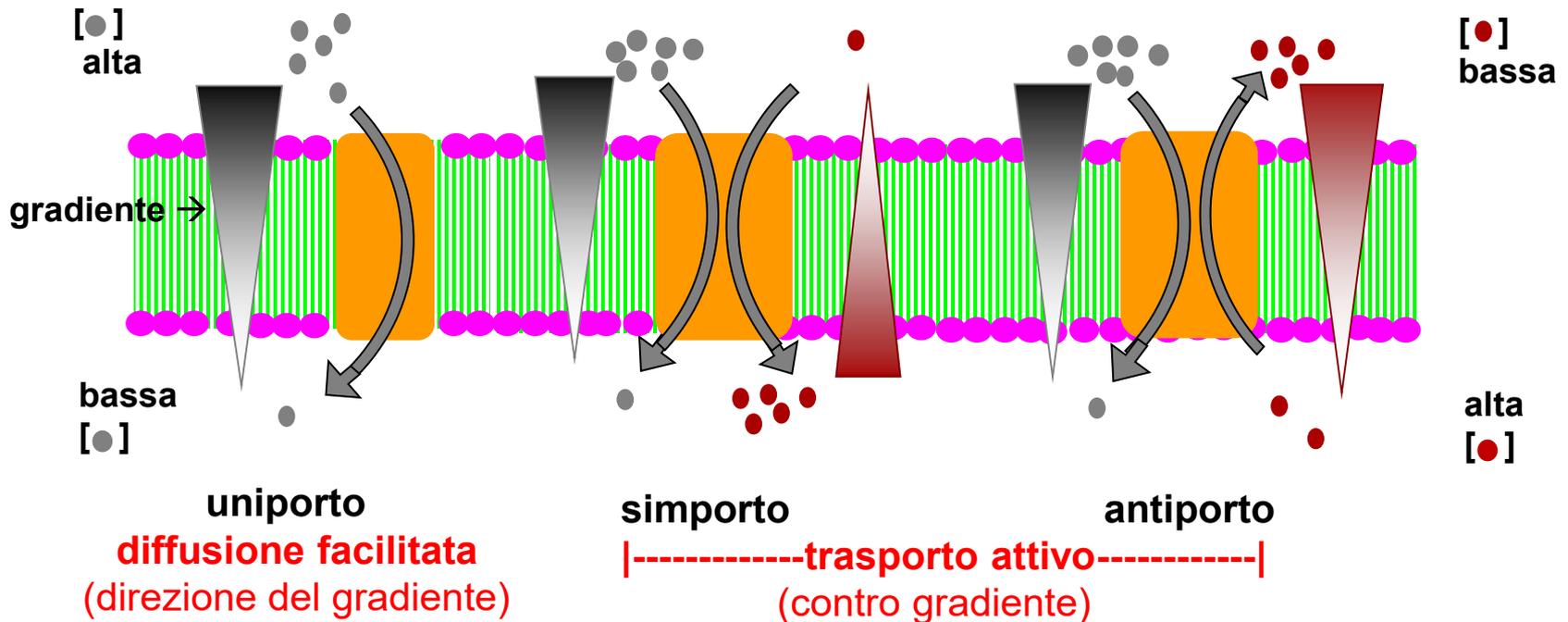
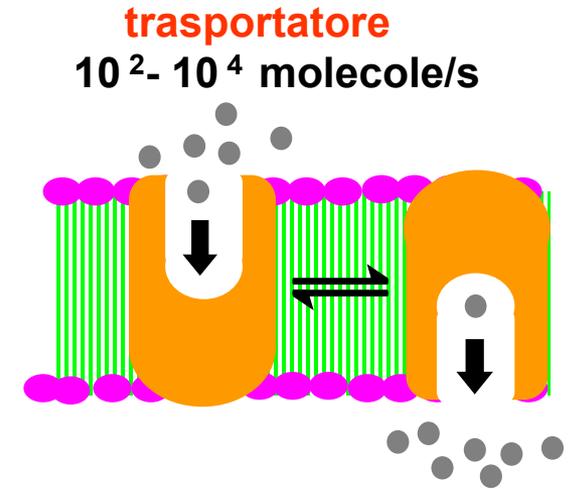
► Trasporto passivo: diffusione semplice e canali per ioni

- **Diffusione semplice:** molecole lipofile attraversano la membrana spontaneamente
- **Diffusione facilitata:** i **canali per ioni** permettono il transito selettivo di ioni nella direzione del gradiente di concentrazione (). Sono dotati di **sbarramenti (gated)** per un controllo preciso del flusso e di **filtri** molecolari per un controllo della selettività.



Cotrasportatori / scambiatori

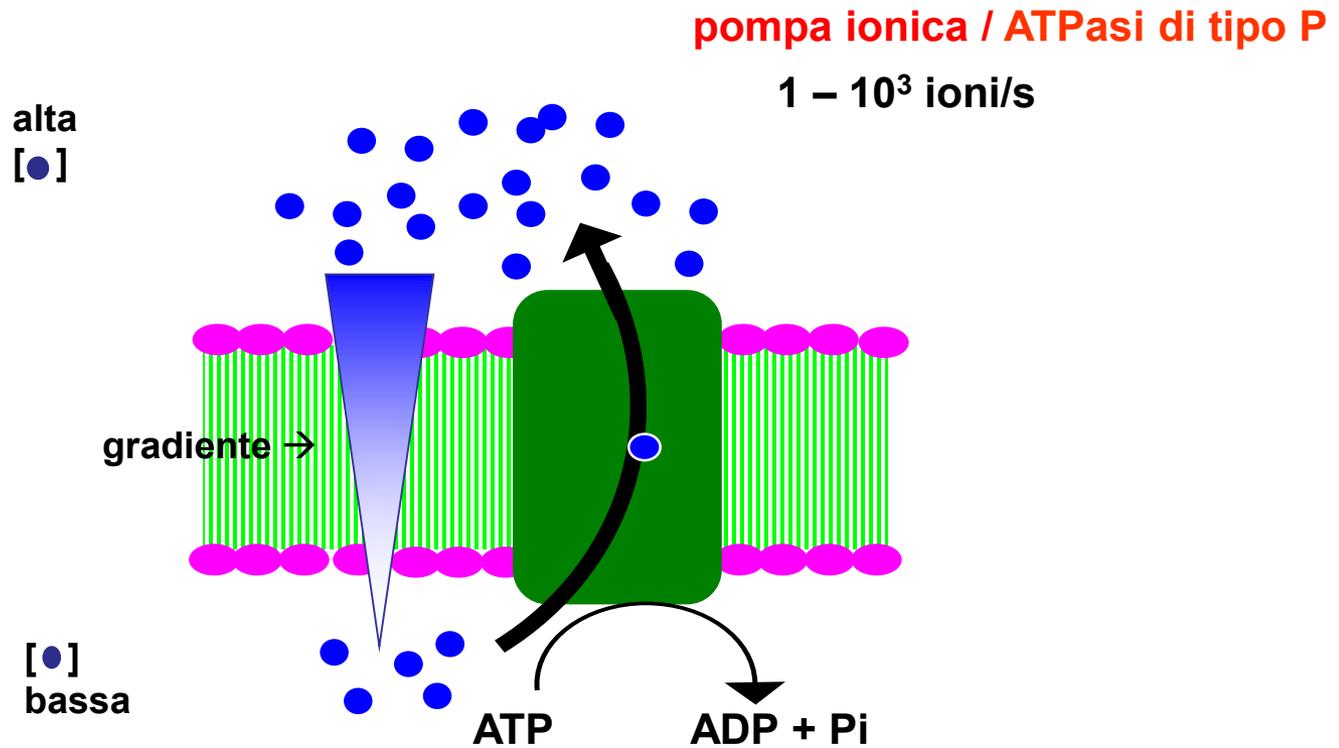
- ▶ **trasportatori passivi:** effettuano il trasporto di molecole in direzione del gradiente chimico
- ▶ **trasportatori attivi:** effettuano il trasporto di molecole in direzione opposta al gradiente chimico se questo è accoppiato con il trasporto di ioni o altre molecole in direzione del loro gradiente di concentrazione (che fornisce l'energia necessaria al trasporto contro gradiente)



Trasporto attivo - Pompe per ioni

- Trasportano ioni contro il gradiente di concentrazione

- un processo **termodinamicamente sfavorevole** che richiede input di energia (*idrolisi di ATP, energia elettromagnetica/fotoni, potenziale di membrana*)



Ion Channels

▶ Proteine integrali di membrana (PIM) strutturate in modo da formare pori

- permettono il flusso di ioni in direzione del loro gradiente chimico:

Na^+ extracellulare \rightarrow intracellulare

K^+ intracellulare \rightarrow extracellulare

Ca^{++} extracellulare \rightarrow intracellulare \leftarrow reticolo endoplasmatico

- si aprono in maniera controllata (*gated pores / pori con sbarramento*).

▶ Due tipi di controllo:

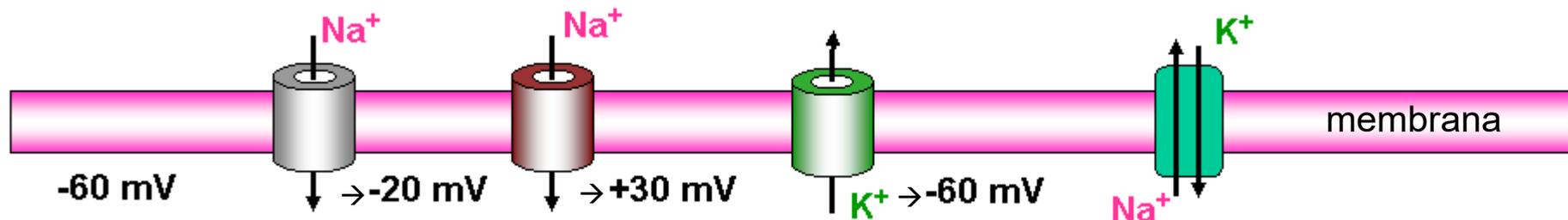
– una molecola che si lega ad un sito recettoriale (canale attivato da ligando / **ligand gated**)

– variazione del potenziale elettrico di membrana (canale attivato dal potenziale / **voltage gated**)

▶ Esempio: Canali coinvolti nella propagazione degli impulsi nervosi nei neuroni.

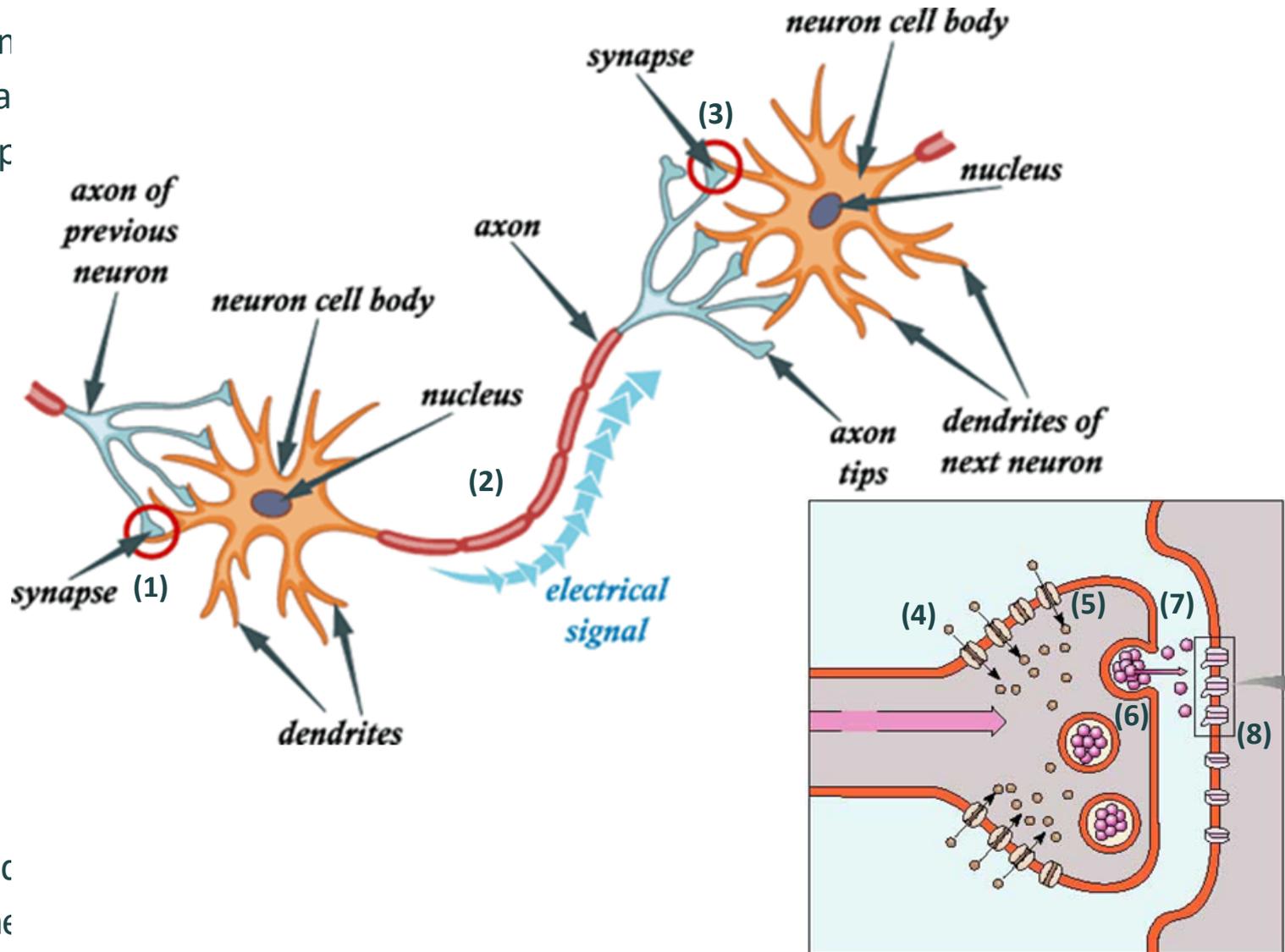
- Il **potenziale d'azione** dipende dalla **variazione transitoria** del potenziale di membrana che si propaga rapidamente lungo le cellule nervose.

- Questa variazione è generata dalla **depolarizzazione/ripolarizzazione** locale della membrana mediante l'apertura e la chiusura di canali per il sodio (controllo ligando) e per il potassio (voltaico).



Propagazione dell'impulso nervoso

- (1) Il segnale è ricevuto dai dendriti sul corpo centrale del neurone e si propaga lungo la membrana del corpo e
- (2) poi lungo la men
- (3) fino ad arrivare a
- (4) qui attiva canali p
- (5) il flusso di Ca^{2+}



- (6) attiva la fusione c
- (7) Le molecole di ne
- (8) e attivano i canali per il Na^+ sull'altro lato.

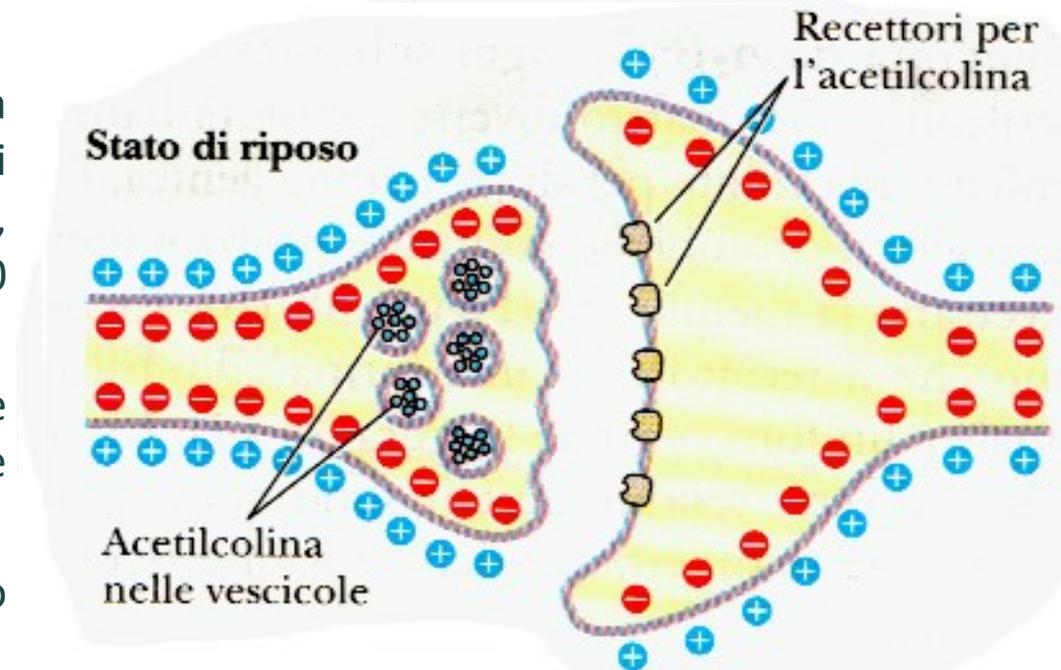
LIGAND- & VOLTAGE-GATED CHANNELS – Impulso nervoso

► Ligand-gated channel- recettore nicotino per l'acetilcolina (AC)

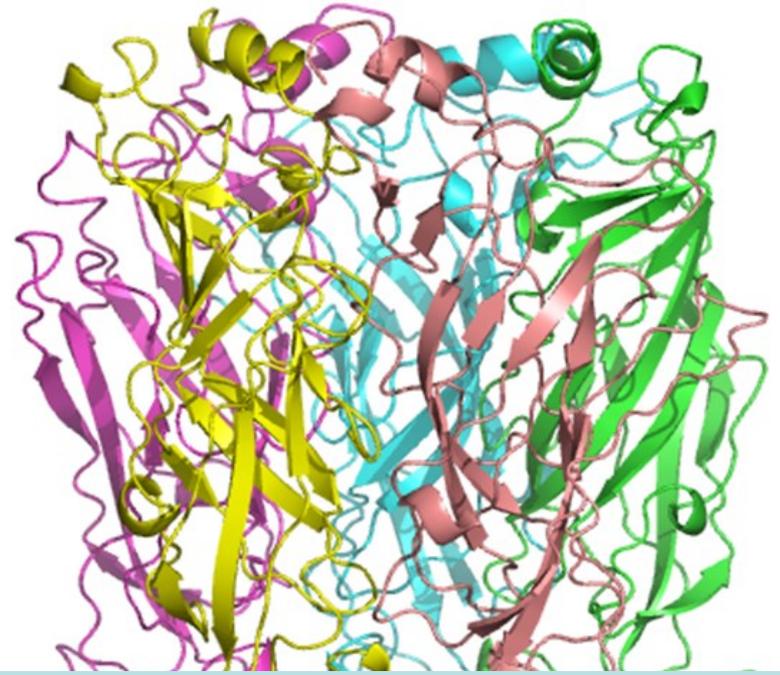
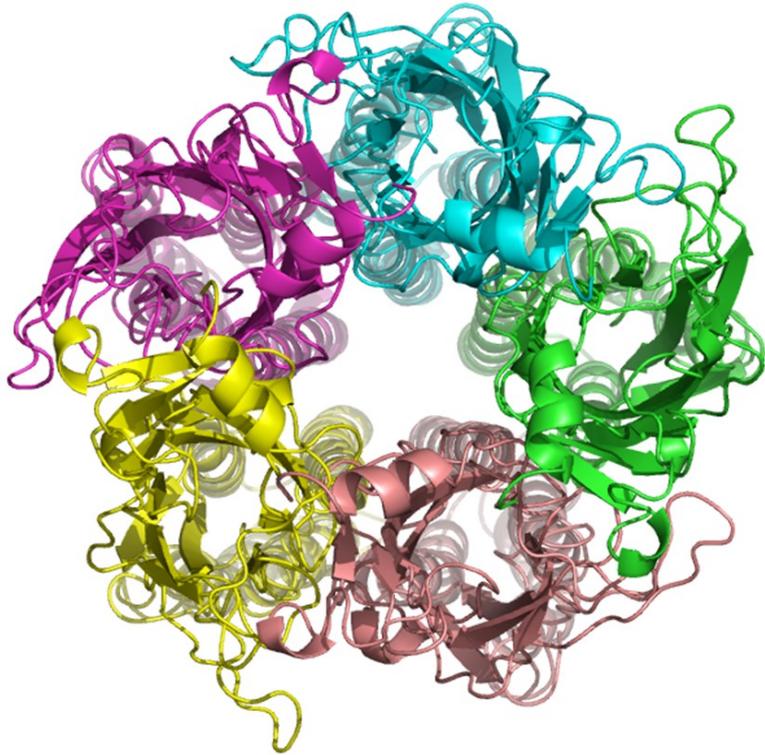
- AC è un neurotrasmettitore colinergico che viene rilasciato nella fessura sinaptica.
- Ogni impulso causa la fusione di *ca.* 300/400 vescicole, la [AC] nella fessura sinaptica aumenta velocemente da 10 nM ad oltre 500 μ M.
- attraversano rapidamente la fessura raggiungendo la membrana post-sinaptica di un secondo neurone, dove attivano specifici ion channel receptors (ICR) che sono ligand-gated channels per Na^+ , depolarizzando la membrana da -60 mV \rightarrow -20 mV

► Voltage-gated channels

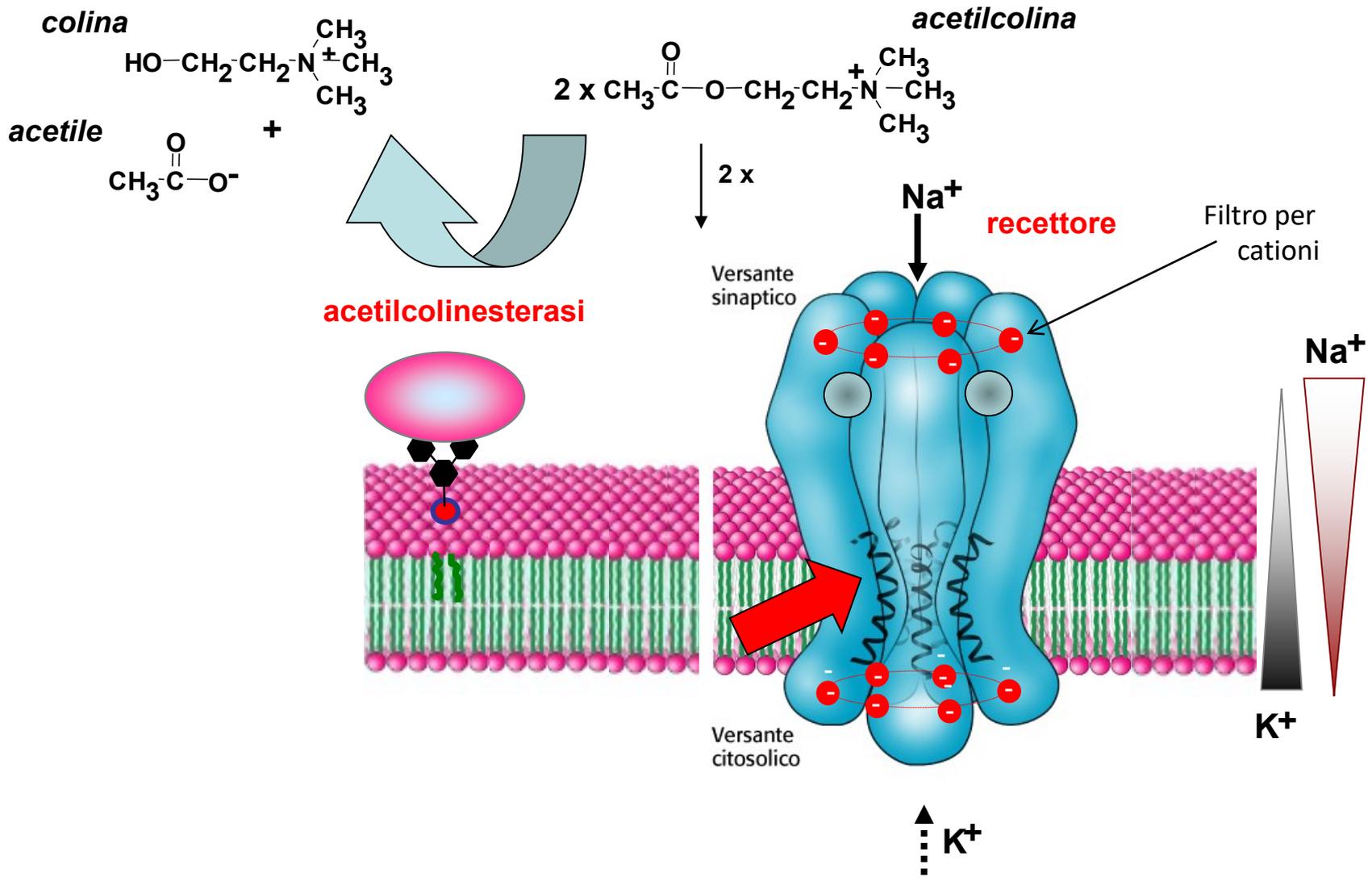
- La depolarizzazione locale della membrana causa l'apertura di voltage-gated Na^+ channels, aumentando la depolarizzazione a +30 mV
- Questo livello di depolarizzazione attiva voltage-gated K^+ channels che ripristinano il potenziale \rightarrow -60mV
- Il gradiente chimico è poi ripristinato dalla Na/K ATPasi (trasporto attivo)



Recettore nicotinic per l'acetilcolina – struttura



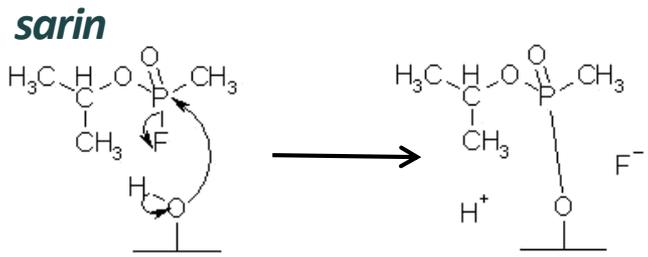
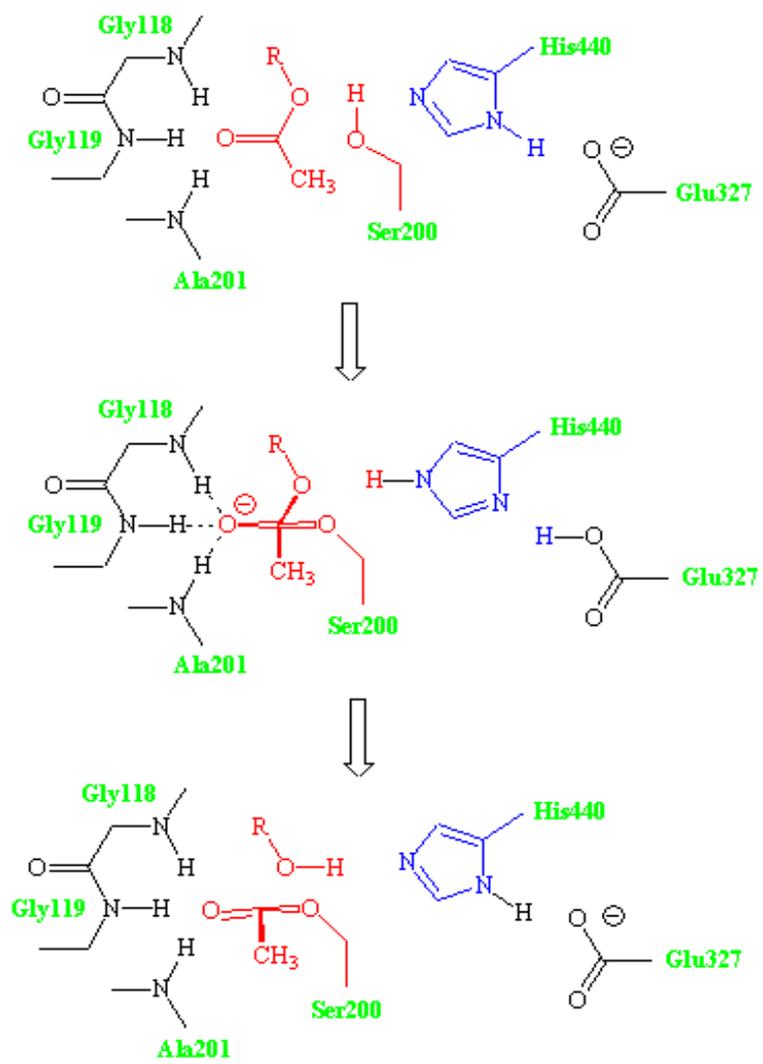
Reccettore nicotinico per l'acetilcolina – meccanismo d'attivazione



Disattivazione dell'impulso – acetylcholinesterasi

► Meccanismo catalitico è simile a quello delle serina proteasi

- La scissione dell'acetilcolina è catalizzata da una serin-esterasi (E.C. 3.1.1.7).
- La fase di trans-esterificazione (legame covalente con Ser dell'enzima) è seguita dalla fase di deacetilazione.
- La triade catalitica in questo caso è Glu → His → Ser
- Dopo che il carbonile si lega a Ser, His "restituisce" il protone fornendo la necessaria catalisi acida per la scissione del legame. Si libera colina, e l'enzima rimane acetilato. Segue poi la fase di deacetilazione mediante idrolisi.
- I gas nervini agiscono bloccando il residuo di serina nell' acetilcolinesterasi in maniera permanente



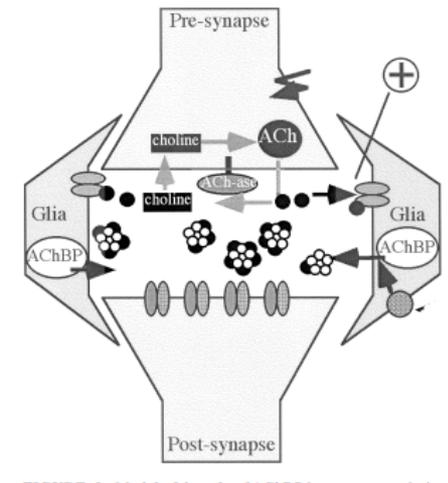
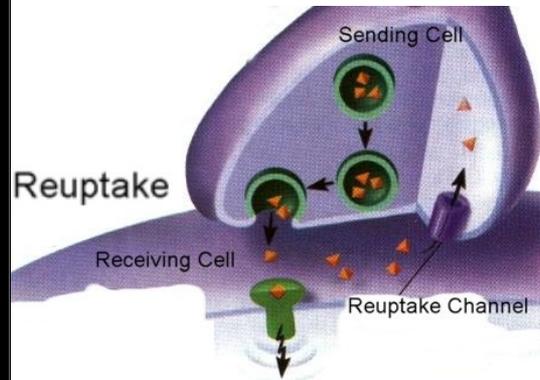
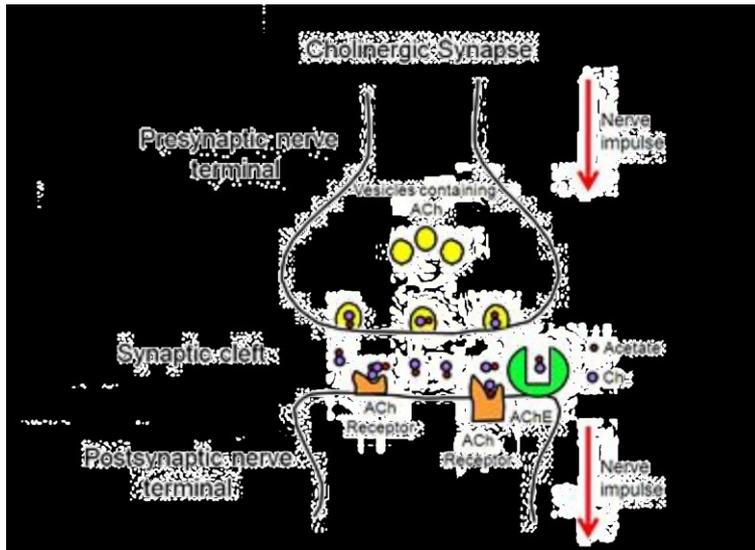
ACETYLCHOLINE-GATED CHANNEL: Meccanismi di disattivazione

► È importante che lo stimolo iniziae nell'impulso neroso sia rimosso rapidamente

1) **Via degradativa (idrolitica):**
un enzima idrolizza la
molecola segnale

2) **Ricaptazione (reuptake):**
trasportatori di membrana
allontanano diversi neuro_
trasmettitori dalla spazio
extracellulare

3) **Sequestro :**
Da parte di una proteina
solubile con sito di legame
simile a quello del sito
recettoriale



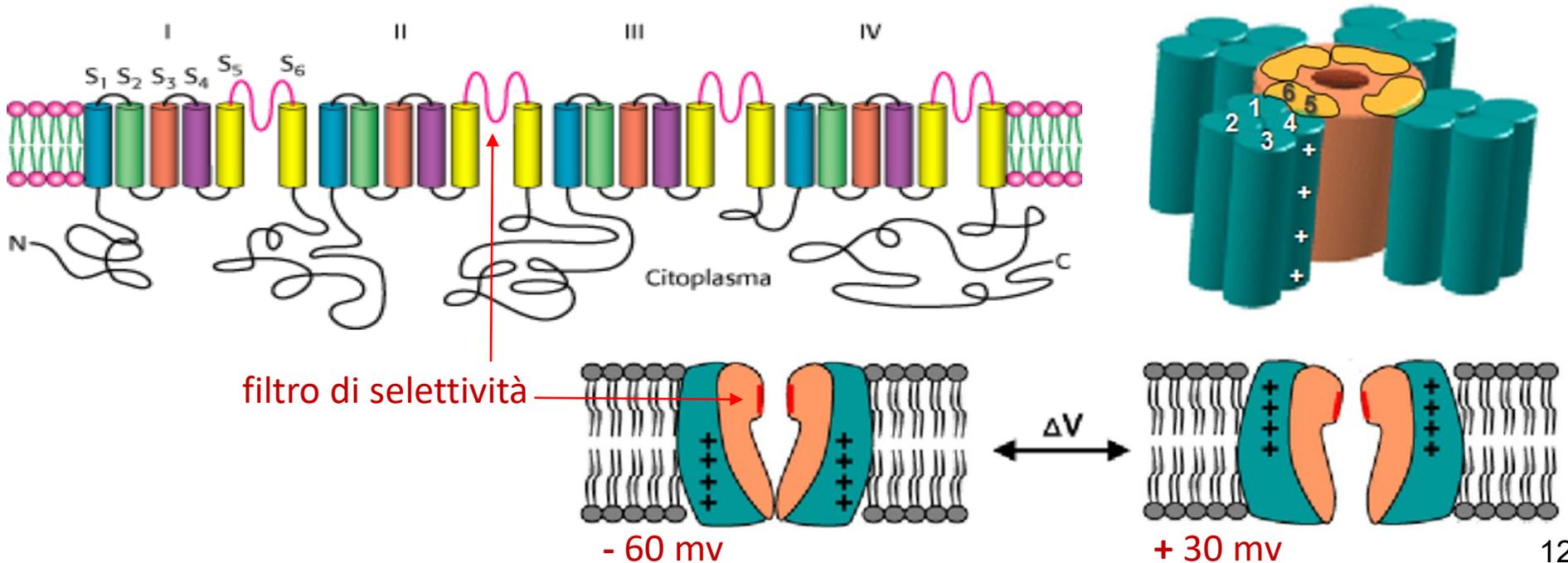
- la **acetilcolinesterasi** rimuove
l'**acetilcolina** dalla superficie esterna
della membrana post-sinaptica

- L'endocitosi ultrarapida
permette di rimuovere
molecole dallo spazio inter_
sinaptico in meno di 100 ms

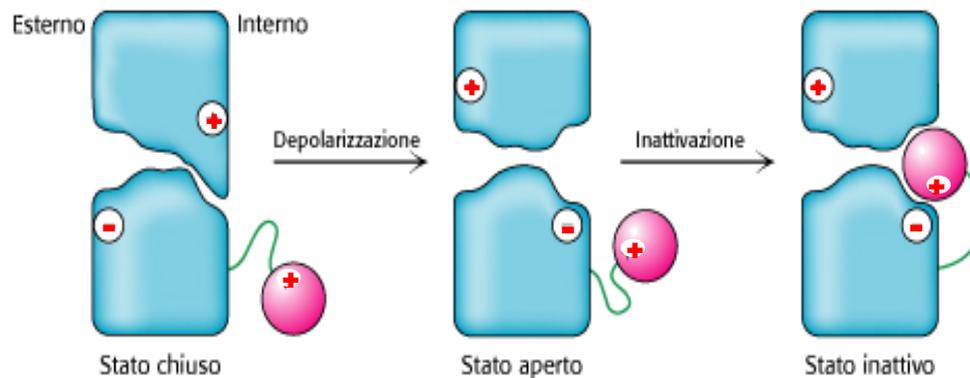
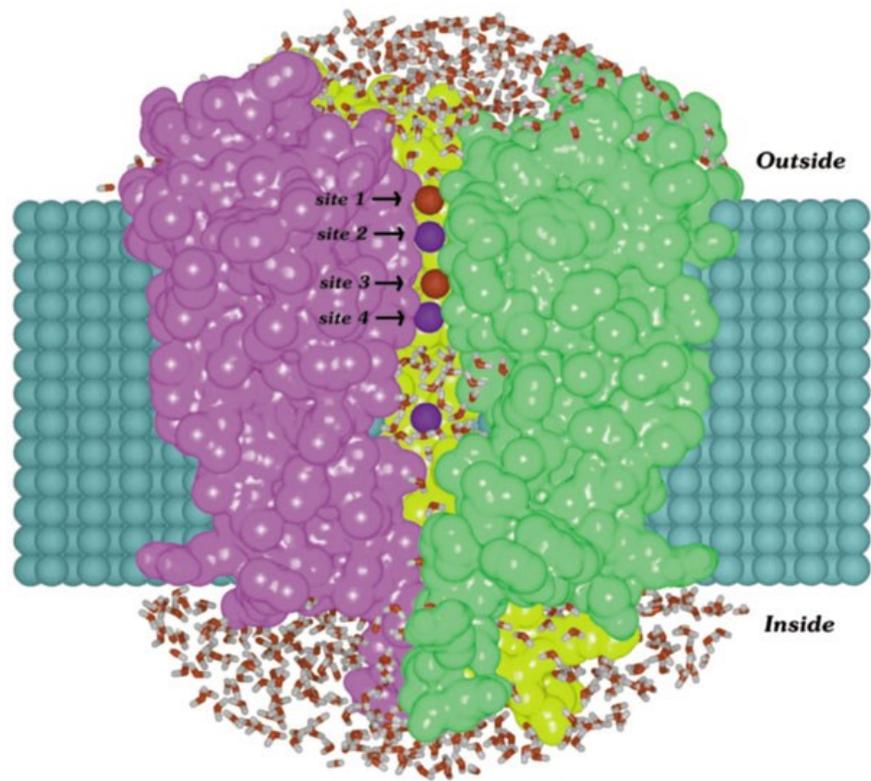
Le cellule gliali producono e
rilasciano AcCh-binding
protein nello spazio
intersinampico

VOLTAGE-GATED CHANNELS

- ▶ I canali ionici attivati dal potenziale di membrana (*voltage-gated*) sono composti da più subunità identiche o diversi domini omologhi che si associano per formare il poro
 - I canali *voltage-gated* per Na^+ o K^+ sono composti da 4 subunità (o da 4 domini) transmembrana, ciascuna/o formata/o da 6 α -eliche TM, delle quali 5 sono costituite principalmente da residui idrofobici (situazione tipica per segmenti TM) mentre una (la S4) è ricca di residui cationici (Lys o Arg ogni tre residui – situazione inusuale per segmenti TM)
 - queste sequenze sono molto conservate nei canali presenti in diverse specie, indicando la loro importanza funzionale (sono i sensori per il potenziale) poiché i residui carichi inserite in un ambiente lipidico (costante dielettrica basso) risentono molto le variazioni di potenziale



Disattivazione dei canali voltage-gated

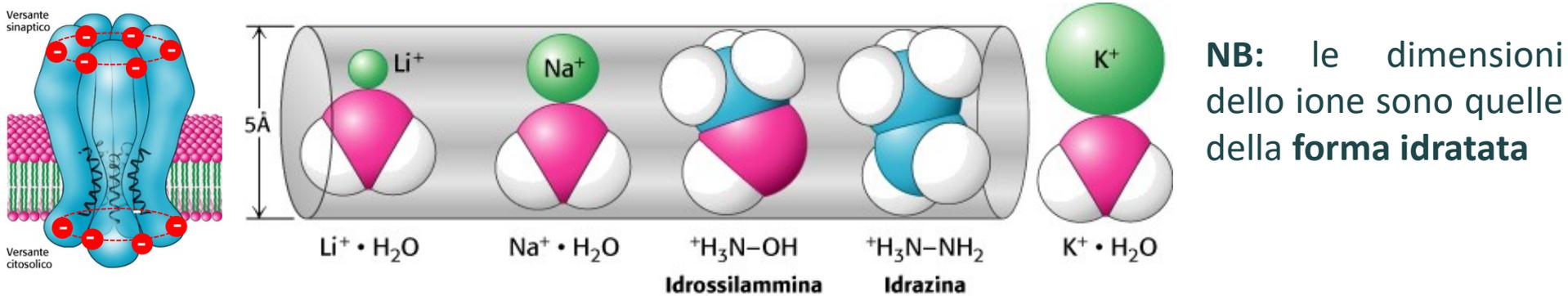


SELETTIVITÀ e DISATTIVAZIONE dei canali ionici

► Una volta attivato lo sbarramento i canali permettono il flusso di ioni in modo selettivo

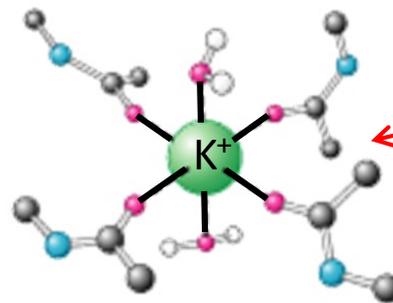
- Il lume dei pori nei canali ionici è altamente selettivo:

- 1) anelli di residui acidi (Glu, Asp) ai bordi del poro determinano la selettività per transito di cationi
- 2) fattori sterici (dimensioni del poro) determinano la selettività per il tipo di catione

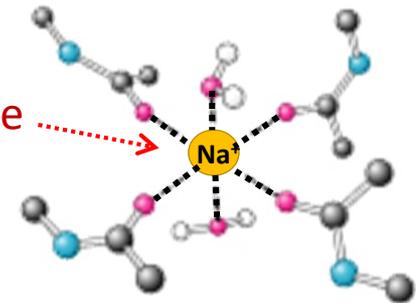


- il canale per Na^+ ha le corrette dimensioni $\text{Na} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ma non $\text{K} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (preferenza = 11 volte).

- il canale per K^+ è **più stretto** e foderato con catene laterali polari che possono *transitoriamente* sostituire H_2O per K^+ ma non per Na^+ (le distanze non sono corrette)



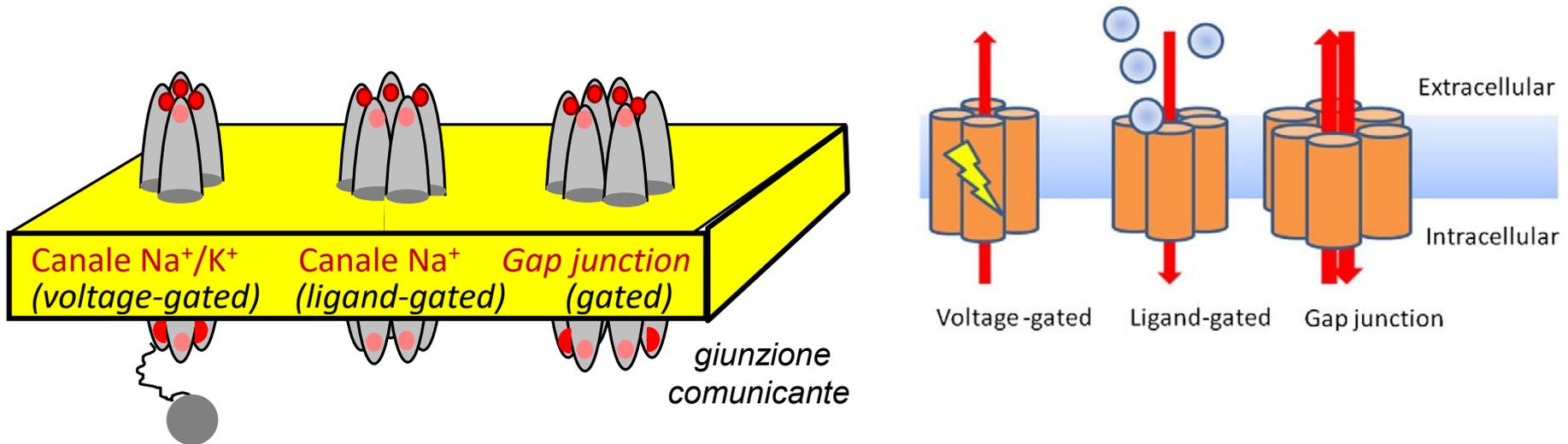
pseudoidratazione



Ion channel hanno strutture modulari

► Mostrano motivi strutturali ricorrenti:

- sono costituiti da **subunità multiple** (es. canali per K) o da **domini omologhi multipli** (es. canali per Na o Ca)
- in genere sono formati da **4** (voltage gated), **5** (ligand gated) o **6** (ligand and voltage-gated) subunità o domini
- il **lume del poro si colloca lungo l'asse di simmetria del canale** ed è foderato da amino acidi provenienti dalle diverse subunità.
- La **selettività** è determinata da **anelli di residui carichi** attorno all'accesso e dal diametro della **parte più stretta del lume** (filtro di selettività); più unità formano il canale, meno selettivo è
- i canali sono generalmente **proteine allosteriche** controllate da fattori esterni quali il legame di effettori allosterici, il potenziale di membrana, effetti meccanici, oppure fosforilazione



POMPE IONICHE – ATPasi di tipo P

- ▶ Le pompe molecolari sono complessi proteici transmembrana che trasportano ioni contro il loro gradiente chimico (di concentrazione).
- il nome deriva dal fatto che **idrolizzano ATP (ATPasi)** e che sono **transitoriamente fosforilate (P)**
- la pompa Na/K ATPasi è vitale per i neuroni e altre cellule perché **ripristina i gradienti ionici** cellulari, **portando fuori 3 Na⁺ e dentro 2 K⁺** dalla cellula
- questo processo richiede da un sistema di **trasporto attivo**, con input di energia
- se gli ioni sono trasportati anche contro il potenziale elettrico, l'energia libera è data da:

gradiente chimico

gradiente elettrochimicocali

$$\Delta G = RT \ln \frac{[\text{ione}]^{\text{int}}}{[\text{ione}]^{\text{ext}}} + z\Delta V$$

F = cost. di Faraday (23 kcal/mol/V)

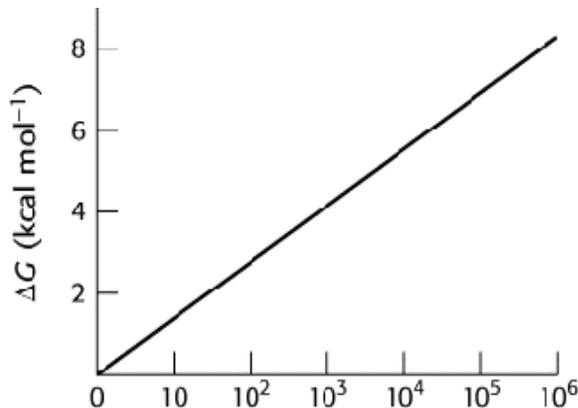
ΔV = potenziale transmembrana

z = carica

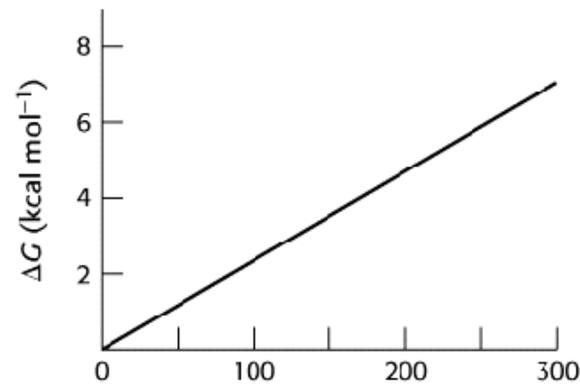
R = costante dei gas

T = temperatura (Kelvin)

- se ΔG è negativo il trasporto è per diffusione passiva
- se ΔG è positivo, il trasporto non spontaneo e avviene solo se accoppiato all'idrolisi di ATP



(A) Rapporto tra le concentrazioni (c_2/c_1)



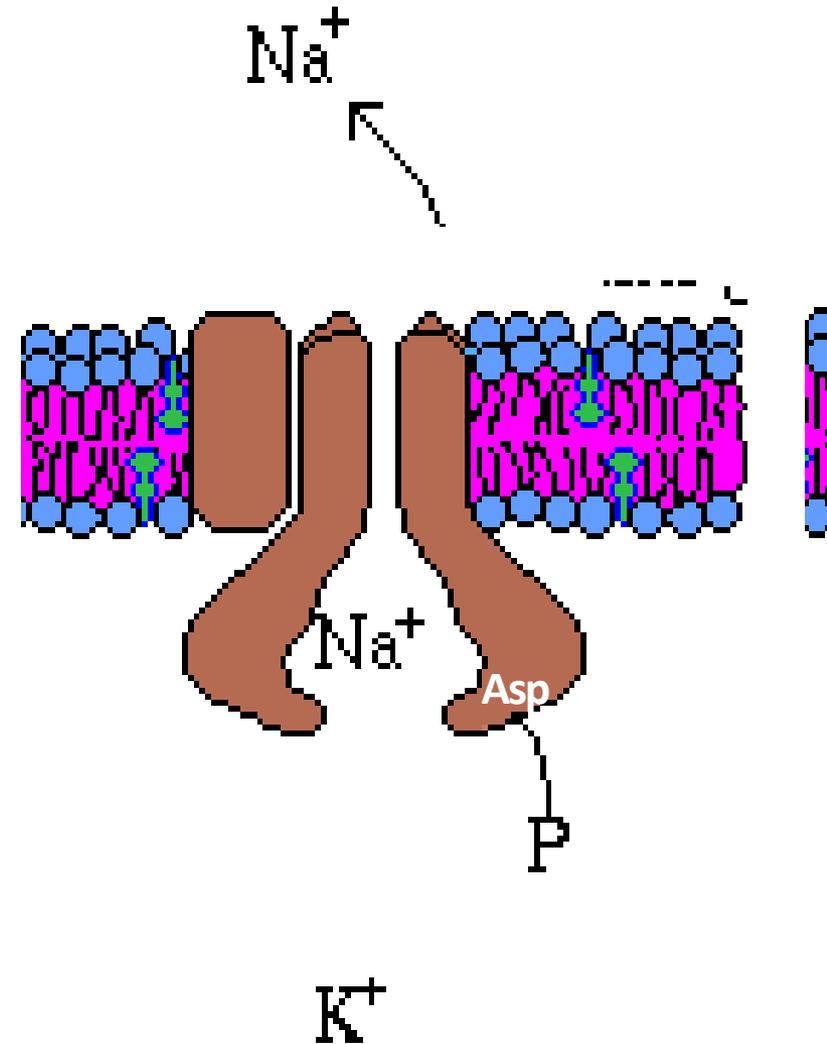
(B) Potenziale di membrana (mV)

POMPA Na/K ATPasi

► La pompa Na-K si trova è il più chiaro esempio di trasporto attivo primario di ioni attraverso la membrana plasmatica:

- complesso **omodimerico** (270 KDa) in grado di es
- ATP si lega solo se $[Na]^{int}$ è elevato ed utilizza il r
dell'*eversione/inversione*

- 1) Na^+ lega sul alto citoplasmatico della pompa (elevata affinità, che **favorisce il legame di ATP**
- 2) con l'intrinseca attività di *ATPasi* idrolizza ATP trasferendo un fosfato su un **residuo di Asp**
- 3) questo causa l'*eversione* dell'impalcatura prot che presenta Na^+ all'esterno, **perdendo affinità rilasciandolo** anche se $[Na]$ qui è elevata
- 4) la nuova conformazione ha un'**affinità elevata** che lega e questo **causa le defosforilazione** del Asp, portando all'**inversione dell'impalcatura pro**
- 5) la conformazione iniziale **perde affinità per K^+** e lo rilascianda anche se $[K]$ qui è elevata
- 6) Questo causa l'inversione, iniziando un nuovo ciclo



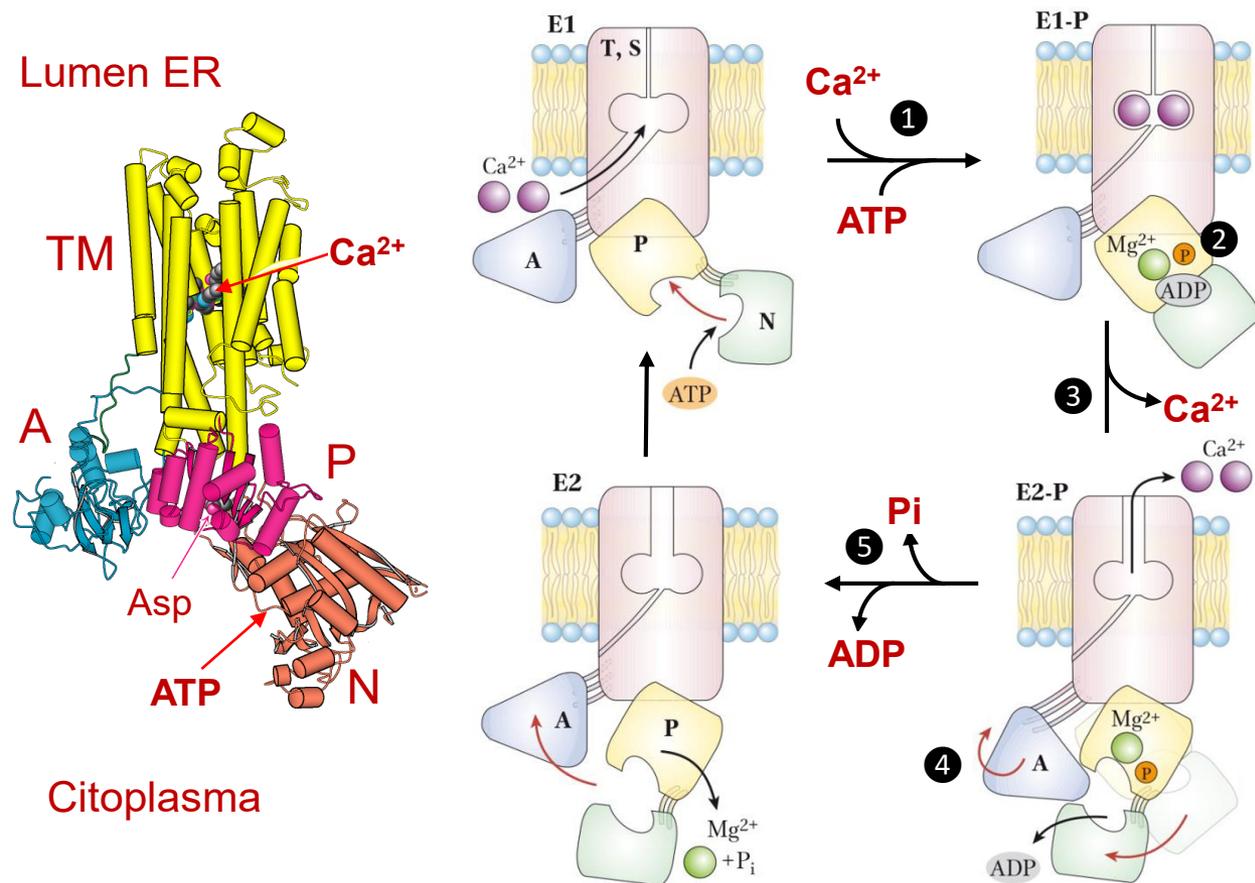
POMPA Ca^{2+} ATPasi

► La pompa per Ca^{2+} del reticolo sarco-endoplasmatico (SERCA) trasferisce rapidamente 2 Ca^{2+} dal citoplasma al reticolo sarcoplasmatico promuovendo il rilassamento muscolare

- complesso **omodimerico** (270 KDa) in grado di estromettere **2 Ca^{2+}** dal citoplasma

- è un'unica catena con 4 domini funzionali che adotta due diverse conformazioni E1 ed E2:

i) dominio TM dove lega il Ca^{2+} ; ii) dominio A citoplasmatico (adattatore); iii) dominio P (fosforilazione); iv) dominio N (legame nucleotide)



- 1 **E1**: alta affinità per Ca^{2+} , legano Ca^{2+} a **TM** e ATP al dominio **N** → **E1-P**
- 2 **E1-P**: idrolisi di ATP e fosforilazione di Asp nel dominio **P** → **E2-P**
- 3 **E2-P**: Esposizione dei siti del Ca^{2+} verso il lato esterno con affinità ridotta, Ca^{2+} si stacca
- 4 La perdita di Ca^{2+} promuove il movimento del dominio **A** che causa la perdita di ADP
- 5 Il dominio **P** si defosforila **EP-2** → **E2**
- 6 **E2**: il dominio A torna alla conformazione iniziale e la conformazione **TM** → **E1**

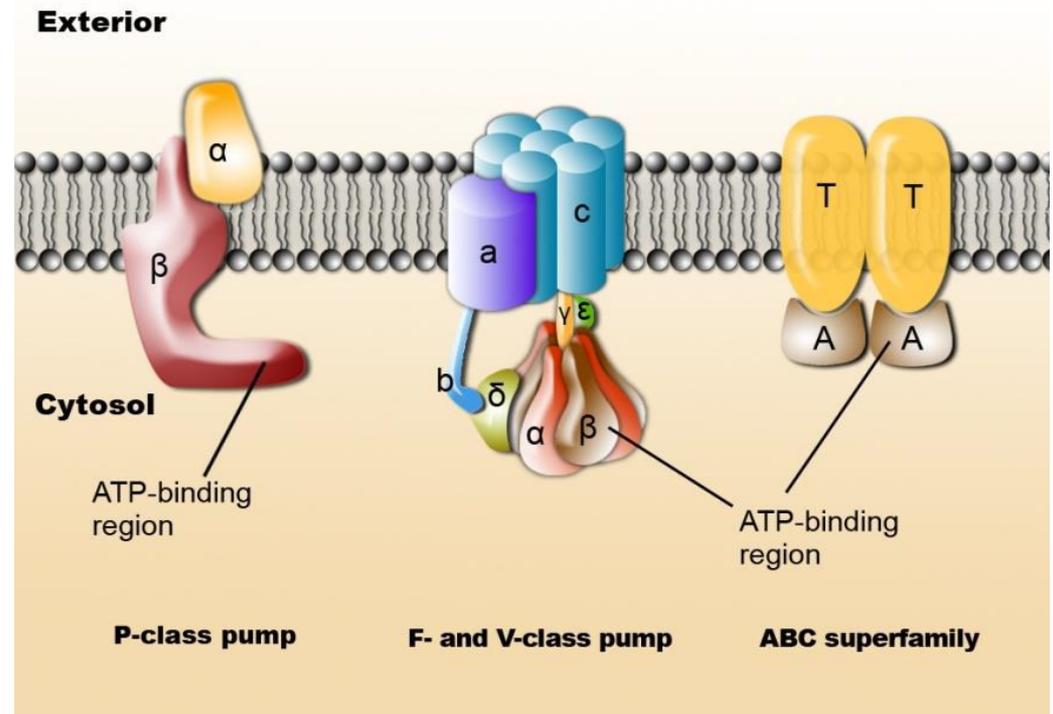
ALTRI TIPI DI TRASPORTATORI ATTIVI

▶ Altri trasportatori utilizzano l'idrolisi di ATP – servono per concentrare metaboliti

1) **ATPasi di tipo V (vacuolari):** trasportano protoni (H^+) e sono responsabili per acidificazione di compartimenti come i lisosomi e gli endosomi

2) **ATPasi di tipo F (ATP sintasi):** trasportano protoni (H^+) ma in genere funzionano al contrario, cioè come *ATP sintasi*. Un flusso di protoni in direzione opposta promuove la condensazione di ADP e Pi per formare ATP (processo della *fosforilazione ossidativa* e della *fotofosforilazione*).

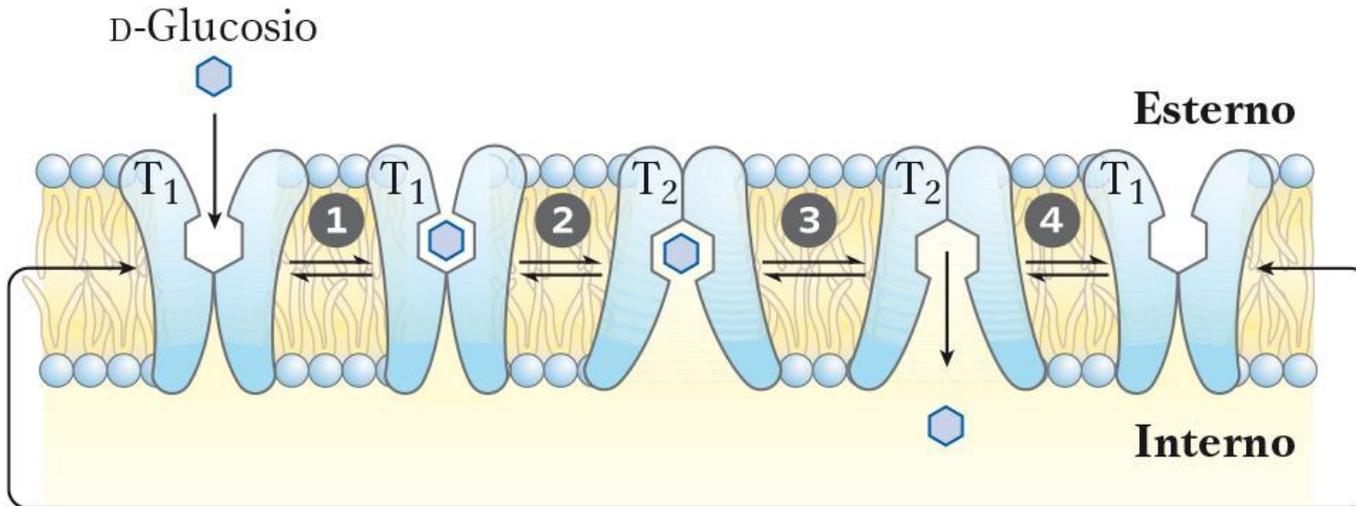
3) **Trasportatori ABC:** trasportano attivamente e selettivamente molte sostanze: **amminoacidi, polipeptidi, ioni metallici, lipidi** e altre **sostanze idrofobiche** all'interno della cellula utilizzando l'ATP come fonte energetica (**ABC = ATP Binding Cassette**).



Trasportatori GLUT: meccanismo d'azione

► Modello di trasporto del glucosio da parte dei GLUT

- ci sono **2 conformazioni alternative** T1 e T2; **T1 apre all'esterno, T2 apre all'interno** e si alternano mediante il meccanismo di inversione/eversione
- ognuna legare il glucosio con **siti di legame esposti sui diversi lati** della membrana
- il **trasporto avviene in entrambe le direzioni**; la direzione **dipende dal gradiente di concentrazione**
- l'**affinità è selettiva** e minore per altri zuccheri e isomeri (~5 volte per epimeri, 1000 volte per L-glucosio) e **non trasporta glucosio fosforilato**.
- ci sono **12 isoforme di GLUT nell'uomo** con diversi K_t per la molecola da trasportare.



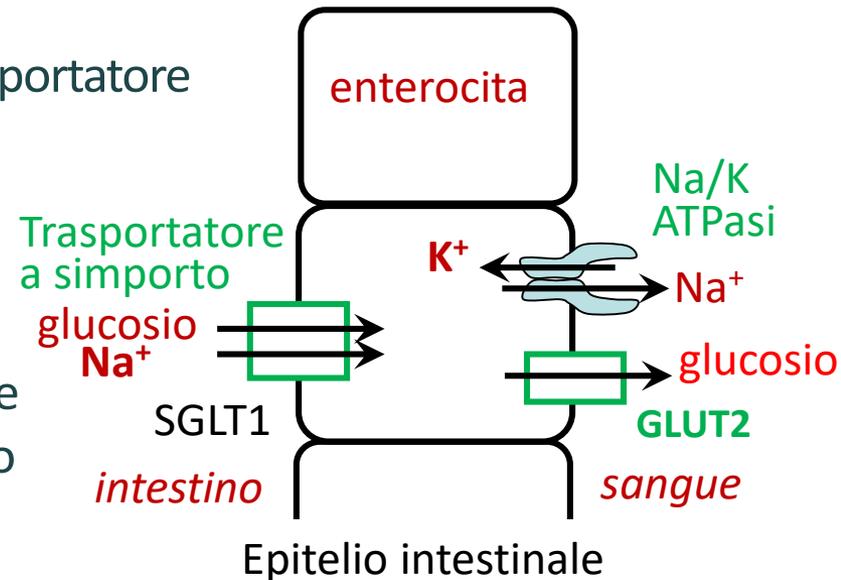
(glucosio non in scala rispetto a trasportatore e membrana)

TRASPORTO DI METABOLITI: trasporto del glucosio

► Diversi trasportatori collaborano per il trasporto trans-membrana di metaboliti necessari per le cellule. La loro azione segue uno schema specifico:

- 1) riconoscimento specifico
- 2) traslocazione (secondo gradiente o potenziata)
- 3) rilascio nel citoplasma
- 4) ritorno alla condizione iniziale

Esempio 1: digestione del glucosio richiede un trasportatore a simporto per trasportare glucosio sfruttando il potenziale del Na^+ e poi utilizza un trasportatore a uniporto (GLUT2) per traslocarlo nel sangue

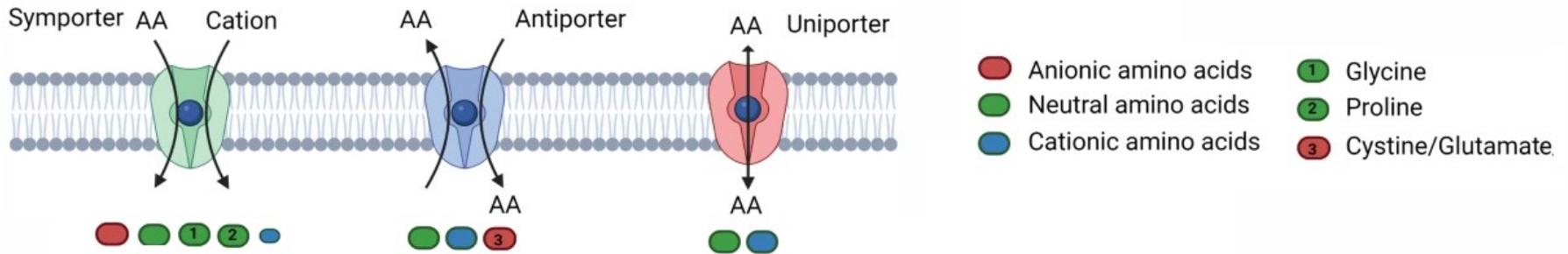


- i **GLUT** sono una famiglia di trasportatori a 12 eliche transmembrana che mediano la traslocazione dello zucchero in direzione del suo gradiente chimico

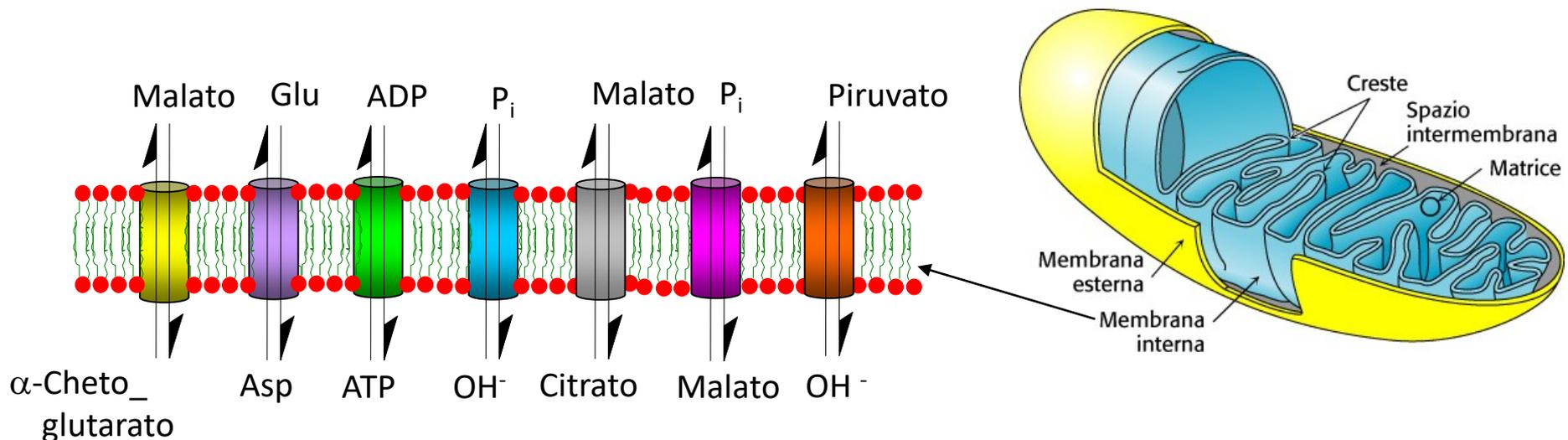
- **GLUT 1**: tutte le cellule ($K_t \sim 5$ mM Gluc) captazione basale
- **GLUT 2**: fegato, pancreas e enterociti (K_t 15-20 mM Gluc) captazione se abbondante
- **GLUT 3**: neuroni ($K_t < 2$ mM Gluc) captazione anche in carenza
- **GLUT 4**: cellule muscolari e adipose ($K_t \sim 5$ mM Gluc) varia con [Gluc] (regolato dall'insulina)

Trasportatori per aminoacidi e mitocondriali

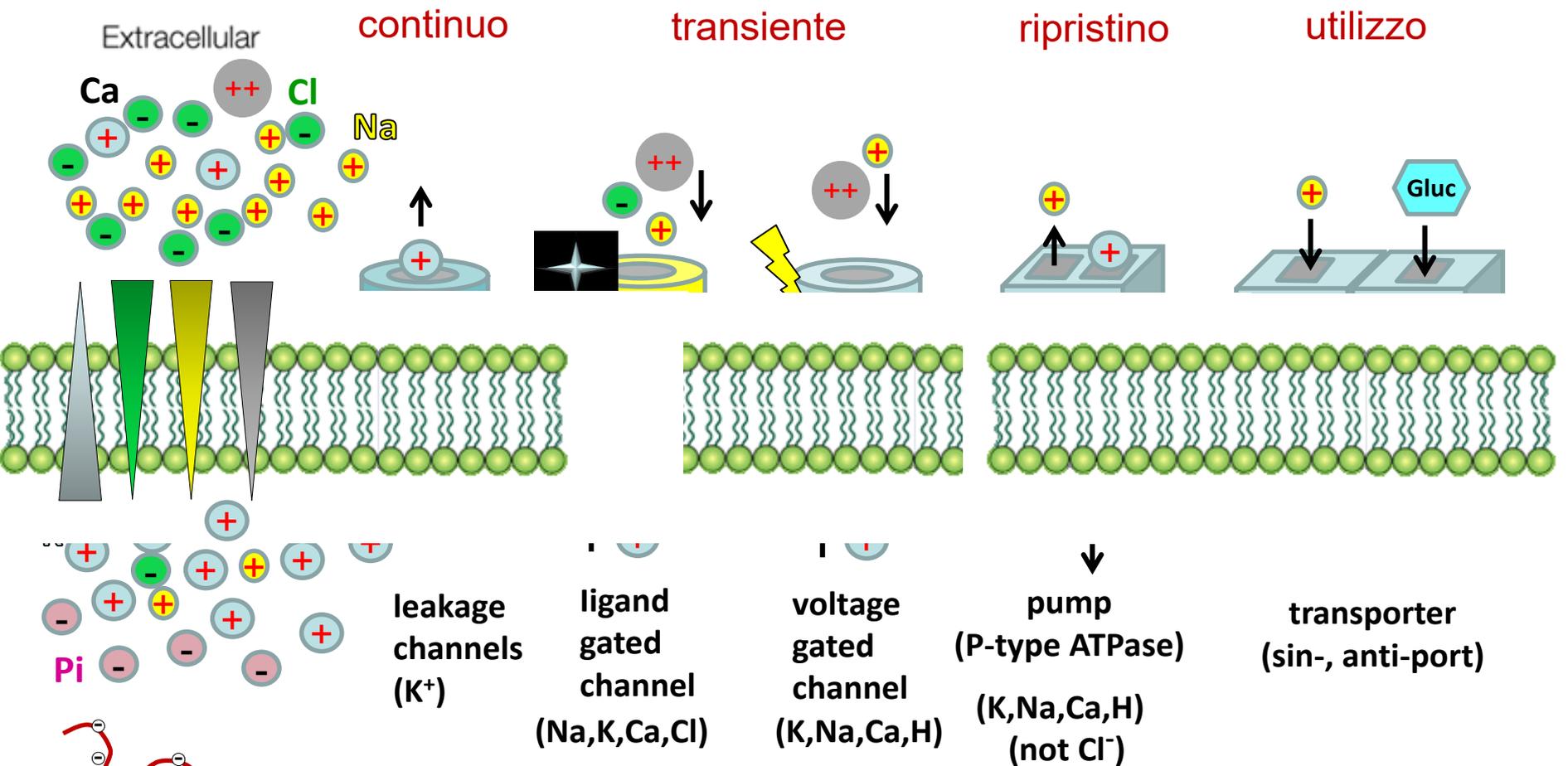
- ▶ **Trasportatori per aminoacidi:** ci sono > 60 diversi trasportatori per aminoacidi che permettono di concentrare gli AA assunti con la dieta nelle cellule
- Sono di 3 diversi tipi a seconda di se trasportano l'AA in direzione del loro gradiente (uniporto) o lo fanno potenziati dal gradiente di uno ione (es Na/AA transporter) o di un altro AA (antiporto)



- ▶ **I trasportatori mitocondriali trasportano metaboliti necessari per la sintesi di ATP**



Diffusione di ioni e potenziale di membrana



macromolecole
(es. proteine,
acidi nucleici)
SPECIE IONICHE
Intracellular

► Il potenziale di membrana dipende da:

- 1) rapporto $[ione]^{in} / [ione]^{out}$ (gradiente)
- 2) permeabilità della membrana (canali)
- 3) mantenimento $[ione]$ (pompe)

► Il potenziale di membrana e utilizzato:

- 1) in cellule eccitabili per propagare un segnale
- 2) in cellule non-eccitabili come fonte di energia per il trasporto di metaboliti

ION CHANNELS: effetti cellulari

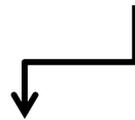
► I canali ionic possono essere attivati da:

- stimoli **chimici**
 - Segnali extracellulari (RECEPTORI IONOTROPICI) → LIGAND GATING
 - Segnali intracellulari (Provenienti da recettori **METABOTROPICI**)(Modulo 3C)
(2° *messaggeri*)
- variazioni del **potenziale** della membrana → VOLTAGE GATING
- stimoli **meccanici** (es. recezione di suoni) → MECHANICAL GATING

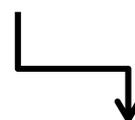
► L'apertura/chiusura dei canali:

- determina **variazioni nel potenziale** di membrana ...
- ... che può determinare la **produzione di 2° messaggeri** intracellulari
- ... che può determinare la **secrezione** (di neurotrasmettitori, ormoni)

RISPOSTE CELLULARI



Sulla cellula recettrice



Su cellule adiacenti o lontane

ION CHANNELS: effetto sul potenziale di membrana

► Tutte le cellule presentano una differenza di potenziale tra i lati della membrana plasmatica

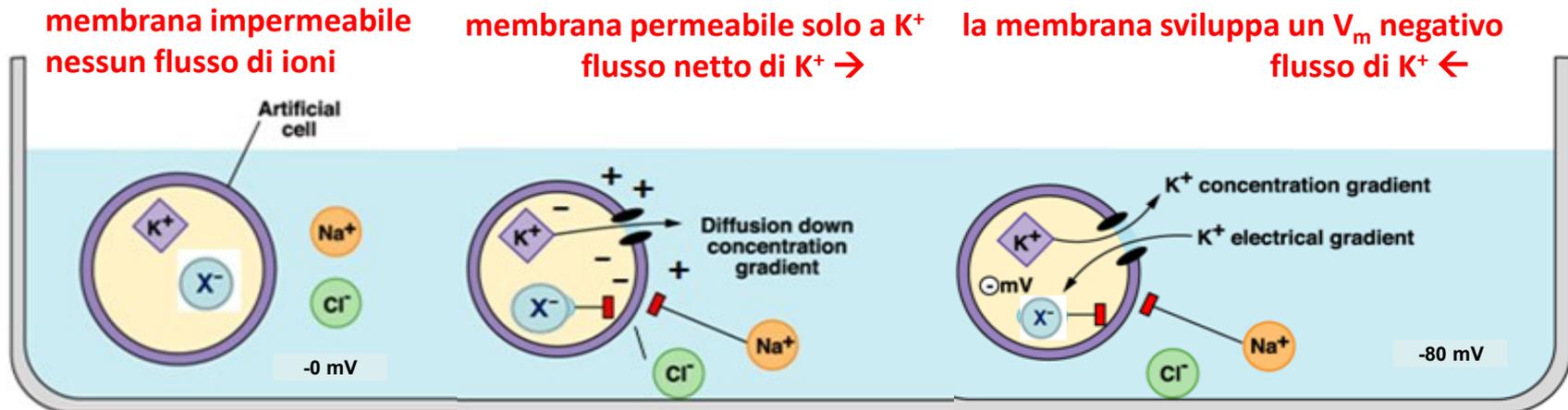
- questo potenziale (E_m o V_m) è misurabile in millivolt (mV)

- nelle cellule animali quiescenti il **resting V_m** (potenziale a riposo) è negativo (da -40 a -90 mV)

- cellule attivate V_m è generato da $\left\{ \begin{array}{l} \text{Gradiente ionico ([specie ioniche] in e out)} \\ \text{Permeabilità selettiva della membrana (canali)} \end{array} \right.$

Ione	[intracell]	[extracell]	gradiente
K^+	140 (mM)	4	35 \rightarrow
Na^+	10	140	14 \leftarrow
Ca^{2+}	<.001	1.8	$10^4 \leftarrow$
Cl^-	4	115	29 \leftarrow

In una cellula permeabile ad un solo ione, V_m coincide con il **potenziale di equilibrio elettrochimico** di quello ione



POTENZIALE D'EQUILIBRIO

► L'equazione di Nernst permette di calcolare il potenziale d'equilibrio (E) di uno ione (X)

$$E_X = (RT/zF) \ln[X]_{\text{out}} / [X]_{\text{in}} \quad (\text{equazione di Nernst})$$

R = costante dei gas = $8.315 \text{ (J K}^{-1} \text{ mol}^{-1})$ F = costante di Faraday = $9.649 \times 10^4 \text{ (C mol}^{-1})$

z = valenza dello ione (= +1 per K, -1 per Cl, +2 per Ca) T = temperatura assoluta

se T = 293K (20° C) e z = +1 $RT/zF = 25.2 \text{ mV}$ $\ln x = 2.303 \log x$

$$E_X = 58 \log [X]_{\text{out}}/[X]_{\text{in}} \text{ mV} \quad (\text{NB } 58 \rightarrow 61.5 \text{ a } 37^\circ)$$

Esempio: se la membrana è permeabile solo a K^+ $[K]_{\text{in}} = 0.14 \text{ M}$ $[K]_{\text{out}} = 0.004 \text{ M}$

In queste condizioni: $E_K = 58 \text{ mV} \log[K]_{\text{out}}/[K]_{\text{in}} = 58 \text{ mV} \log(0.004/0.14) \approx -90 \text{ mV}$

$E_K = -90 \text{ mV}$ (è negativo) $\ominus \rightarrow$

$\ominus +$
 $E_{Na} = +67 \text{ mV}$ (z = +1)

$\ominus -$
 $E_{Cl} = -85 \text{ mV}$ (z = -1)

$\ominus ++$
 $E_{Ca} = +189 \text{ mV}$ (z = +2)

POTENZIALE D'EQUILIBRIO: Effetto congiunto dei ioni permeanti

► Equazione di Goldman–Hodgkin–Katz

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_K[K^+]_{\text{out}} + P_{\text{Na}}[\text{Na}^+]_{\text{out}} + P_{\text{Cl}}[\text{Cl}^-]_{\text{in}}}{P_K[K^+]_{\text{in}} + P_{\text{Na}}[\text{Na}^+]_{\text{in}} + P_{\text{Cl}}[\text{Cl}^-]_{\text{out}}} \right)$$

dove P_x = **permeabilità relativa** dello ione X per quella cellula

- quando **più specie ioniche** si distribuiscono sui due lati della membrana cellulare, ciascuna tenderà a spostare il valore del potenziale di membrana al valore del suo potenziale di equilibrio elettrochimico
- tanto più la membrana è **permeabile (P_x)** ad una specie ionica, tanto maggiore sarà l'effetto che quella specie eserciterà nello spostare il valore del potenziale.
- ne segue che tanto più saranno espressi **canali specifici** per un dato ione nella membrana, tanto maggiore sarà l'effetto che eserciterà nello spostare il valore del potenziale
- nelle cellule, la permeabilità più elevata è normalmente quella del potassio per la presenza di canali a perdita (**leakage channels**)

⊕ Potassium [K⁺] (mM)

PK⁺

[K⁺]_o

[K⁺]_i

⊕ Sodium [Na⁺] (mM)

PNa⁺

[Na⁺]_o

[Na⁺]_i

⊖ Chloride [Cl⁻] (mM)

PCl⁻

[Cl⁻]_o

[Cl⁻]_i

🌡 Temperature

°C

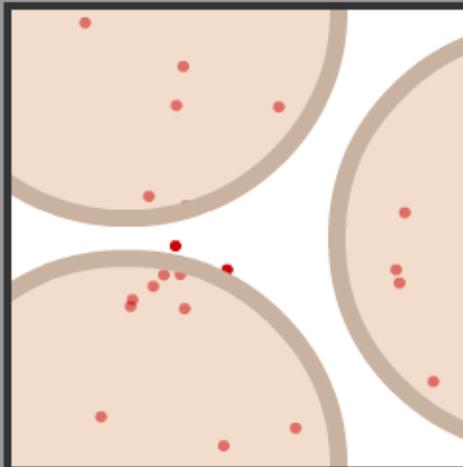
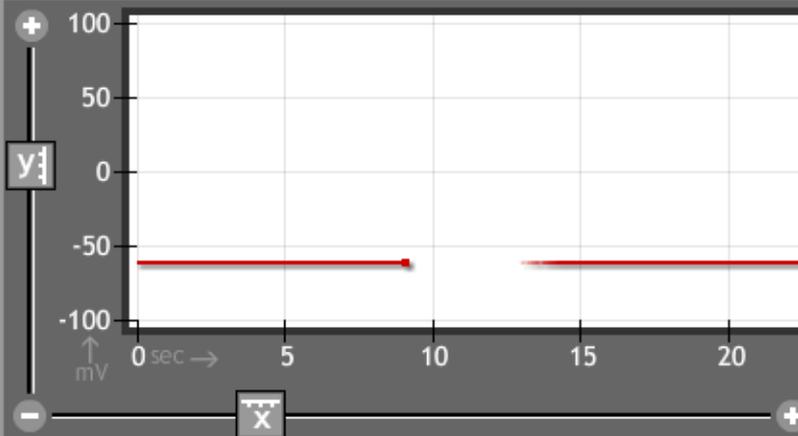
Nernst

Nernst @37°C

Goldman

Goldman @37°C

$$E_i = \frac{-RT}{zF} \ln \frac{[\text{ion}]_i}{[\text{ion}]_o} = -61.5 \text{ (mV)}$$



E_K	-61.5 (mV)
E _{Na}	61.5 (mV)
E _{Cl}	-61.5 (mV)

HELP

ION/PERMEABILITY PRESETS: **DEFAULT**



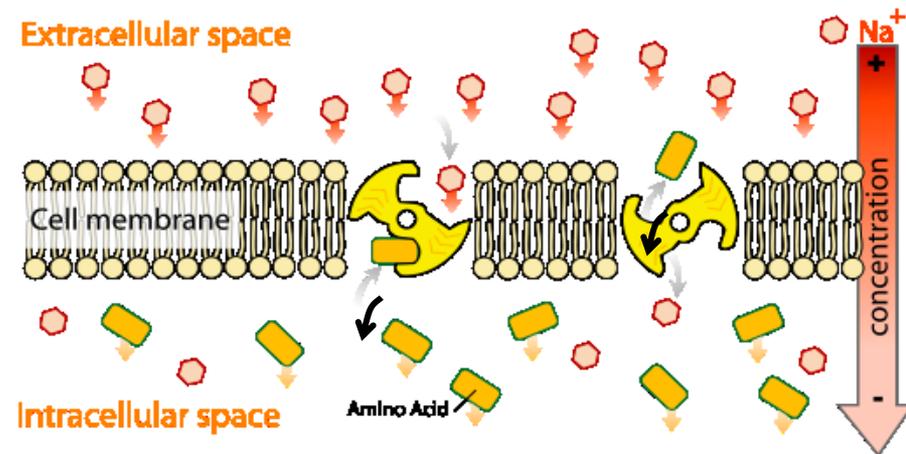
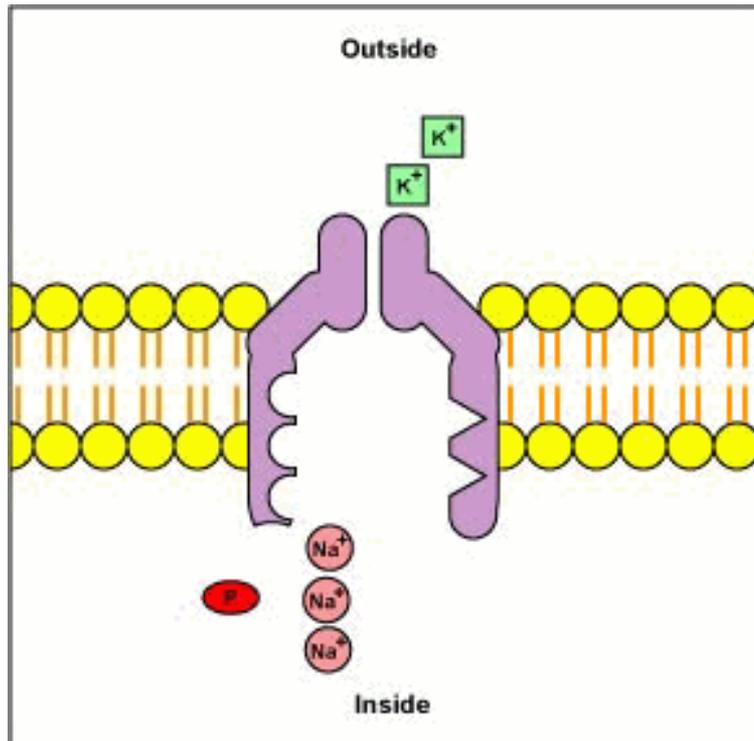
(scarica dal sito moodle del corso)

Potenziale di membrana come fonte di energia

- E_M (resting potential) = -90 mV: $E_{Na} = +67\text{mV}$:
- la **forza elettromotrice** fornita dal Na^+ $\Delta E = E_M - E_{NA} = \{-90 - (+67)\} = -157\text{mV}$
- Questa forza è utilizzata per **energizzare trasportatori** Na/glucosio ed Na/AA

co-trasporto Na^+ /glucosio (*sodium-glucose linked transporter - SGLT* nell'epitelio intestinale)

co-trasporto Na^+ /aminoacidi in tutti i tessuti



- trasporto **attivo** che non richiede ulteriore energia metabolica
- Il flusso di ioni ha però l'effetto di fare variare il potenziale chimico, che deve poi essere ripristinato (es. dalla pompa Na/K ATPasica)

POTENZIALE D'EQUILIBRIO: Effetto congiunto dei ioni permeanti

Esercizio: l'iperkaliemia (elevata concentrazione ematica di K^+) può derivare dall'abuso di diuretici. Supponiamo che $[K^+]$ extracellulare salga da 4 a 20mM, mentre quella intracellulare rimanga a 140mM. Supponiamo, inoltre, che la membrana cellulare contenga solo canali passivi per il K^+ (semplificazione).

- 1) Quale sarà E_M in questa condizione?
- 2) Quale sarà la variazione rispetto al normale E_K fisiologico?
- 3) Quali saranno le conseguenze (es. assorbimento intestinale di zuccheri e AA)?

1) $E_K = RT/zF \ln[K]^{out}/[K]^{in}$ ricordando che a 37° $RT/zF \cdot 2.303 \log = 61.5$

$E_K = 61.5 \log(0.02/0.14) = -52,3 \text{ mV}$ **NB** solo canali K^+ quindi $E_K \rightarrow E_M$

2) $\Delta E_M = (E_K^{norm} - E_K^{ik}) = [-90\text{mV} - (-52,3)] = -37,7\text{mV}$

3) In condizioni fisiologiche $E_M - E_{Na} = \{-90 - (+67)\} = 157\text{mV}$ (f.e.m Na)

iperkalamia $E_M - E_{Na} = \{-52,3 - (+67)\} = 119,3\text{mV} \rightarrow 76\%$ della f.e.m. normale

L'accumulo intestinale di zuccheri e di AA diminuirà del 24%