

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal

**ANÁLISE TEÓRICA DO EFEITO DE CAMPO ELETROMAGNÉTICO
DE 60 Hz NA ATIVIDADE ELÉTRICA DAS CÉLULAS β -
PANCREÁTICAS**

Gesilda Florenço das Neves

Recife, 2013



**ANÁLISE TEÓRICA DO EFEITO DE CAMPO ELETROMAGNÉTICO
DE 60 Hz NA ATIVIDADE ELÉTRICA DAS CÉLULAS β -
PANCREÁTICAS**

Gesilda Florenço das Neves

Orientador:

Prof. Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira

Co-Orientador:

Prof. Dr. Bruno Mendes Tenorio

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Recife, 2013

Ficha catalográfica

N518a Neves, Gesilda Florenço das
 Análise teórica do efeito de campo eletromagnético de
60 Hz na atividade elétrica das células β -pancreáticas /
Gesilda Florenço das Neves. – Recife, 2013.
83 f. : il.

 Orientador: Romildo de Albuquerque Nogueira.
 Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento
de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2013.
 Referências.

 1. Campo eletromagnético 2. Células β -pancreáticas
3. Potencial elétrico transmembrana 4. Diabetes tipo II
I. Nogueira, Romildo de Albuquerque, orientador II. Título

CDD 636.089

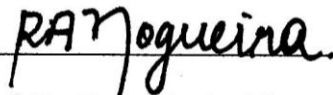
GESILDA FLORENCO DAS NEVES

Análise teórica do efeito de campo eletromagnético de 60 Hz na atividade elétrica das células β -pancreáticas.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Dissertação defendida em 27 de fevereiro de 2013.

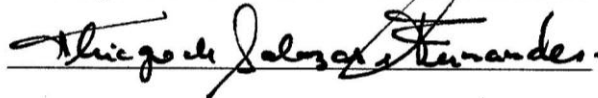
Banca examinadora:



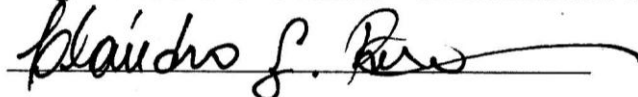
Prof. Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira



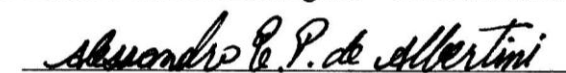
Prof. Dr. George Chaves Jimenez – UFRPE/ Membro interno



Prof. Dr. Thiago de Salazar e Fernandes – UFPE/ Membro externo



Prof. Dr. Cláudio Gabriel Rodrigues – UFPE/ Membro externo



Prof. Dr. Alessandro Victor Patrício de Albertini – UFRPE/ Suplente

Dedico esse trabalho aos meus pais, Giselda e Bráulio, meu irmão, Jonisson e meu esposo, Helton, por sempre ajudarem em meu crescimento, com seus ensinamentos e dedicação, para que eu alcançasse todos os objetivos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por permitir realizações na minha vida, impossíveis aos meus olhos, todos os dias.

Agradeço eternamente aos meus pais, pelo incentivo, ajuda, em todos os momentos. Ao meu irmão Jonisson e meu esposo Helton, por estarem sempre prontos a me ouvir. Amo muito vocês.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Romildo Nogueira, que admiro e agradeço muito, por sua capacidade de escutar, conversar e ajudar em todos os momentos que precisei. E por ter me dado a responsabilidade de uma missão, que por um momento achei até impossível, a realização das simulações.

Ao Dr. Bruno Tenório, meu co-orientador, pela paciência, dedicação e atenção.

Ao Dr. Thiago de Salazar, que participou da equipe de orientação desse trabalho, pela ajuda e incentivo durante todas as fases do projeto.

A Dr. Birajara Soares, pelos ensinamentos dos métodos teóricos e computacionais utilizados nesse trabalho.

A todos meus colegas e amigos do CENAPESQ e LABTEC, especialmente ao meu amigo José Radamés, que acompanhou uma parte das atividades desenvolvidas, com muita dedicação e esforços. Aos companheiros Daniella Tavares, pelo auxílio nas orientações da parte escrita, a Renato Moraes pelas “dicas” para as simulações, Edbhergue Costa, Leandro Aguiar, Jeine, Marliete, Alceu e Cláudio, porque juntos construímos um ambiente de trabalho agradável e acolhedor.

Aos professores e funcionários da Pós-Graduação em Biociência animal, em especial a Edna Cherias, pela atenção e ajuda.

À Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de nível superior (CAPES) pela bolsa concedida.

*De tudo ficaram três coisas: A certeza de que estamos começando,
A certeza de que é preciso continuar e
A certeza de que podemos ser interrompidos antes de terminar
Fazer da interrupção um caminho novo,
Fazer da queda um passo de dança,
Do medo uma escola,
Do sonho uma ponte,
Da procura um encontro,*

E assim terá valido a pena existir!

Fernando Sabino

RESUMO

A partir da década de 50, pesquisadores despertaram o interesse em descobrir qual a estrutura e funcionamento das membranas celulares, o fluxo das correntes iônicas ao longo dessas membranas, seus mecanismos de transportes e suas variações de condutâncias. Esses estudos permitiram a construção de um modelo para descrição do potencial de ação em membranas de neurônios, possibilitando simulações dos impulsos nervosos. A crescente busca para se estudar teoricamente a atividade elétrica de outras células, propôs a criação de outras modelagens, inclusive as que podem representar a atividade das células β -pancreáticas. Sabendo-se do crescimento apontado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) sobre o diabetes nos próximos anos, buscaram-se possíveis meios de terapia para pacientes que sofrem desse distúrbio metabólico. Por outro lado, os processos de eletrificação de cidades e o uso de equipamentos eletrônicos emissores de campos elétricos, têm-se mostrado capaz de alterar mecanismos celulares. Portanto, se o campo elétrico é capaz de estimular ou inibir a síntese e secreção de insulina pelas células β pancreáticas, poderá vir a ser utilizado como uma potencial terapia para o diabetes. Diante disso, este estudo visou simular através de modelos matemáticos o potencial elétrico e as correntes iônicas na membrana das células- β pancreáticas na presença de campos elétricos, no intuito de investigar possíveis alterações no comportamento elétrico da membrana dessas células. A busca por novos modelos teórico-experimentais, como a exposição a um campo elétrico, consiste em uma ideia inovadora e que poderá abrir caminhos para terapias alternativas para doenças como Diabetes Mellitus tipo II quando o tratamento por drogas não é eficiente; além de compreender se há efeitos deletérios da exposição ao campo elétrico.

Palavras-chave: Diabetes tipo II, campo eletromagnético, células β -pancreáticas, potencial elétrico transmembrana.

ABSTRACT

From the 50s, researchers have raised interest in discovering the structure and function of the cell membranes, the flow of ionic currents along those membranes, its mechanisms of transport and voltage variations. These studies allowed the construction of a model for description of the action potential in membranes of neurons, enabling simulations of nerve impulses. The increasing search for theoretically studying the electrical activity of other cells, proposed creating other modeling, including that can represent the activity of pancreatic β cells. Knowing the growth indicated by the World Health Organization (WHO) on diabetes in the coming years, to seek possible means of therapy for patients who suffer from this metabolic disorder. An interesting fact is that the introduction of numerous processes electrification of cities and the use of electronic devices emitting electric fields, have been shown to alter cellular mechanisms. So if the electric field stimulate or inhibit the synthesis and secretion of insulin by pancreatic β cells, this agent could be used in future as a potential therapy for diabetes. Therefore, this study aimed through mathematical models simulate the electrical potential and ionic currents in the membrane of pancreatic β -cells in the presence of electric fields, in order to investigate possible changes in the electrical behavior of the membrane of these cells. The search for new theoretical and experimental models, such as exposure to an electric field, consists of an innovative idea and could pave the way for alternative therapies for diseases such as type II diabetes mellitus when treatment with drugs is not effective, in addition to understanding whether no deleterious effects from exposure to the electric field.

Keywords: Type II Diabetes, electromagnetic field, pancreatic β -cell, membrane potential.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 <i>Diabetes e seus tipos.....</i>	21
2.2 <i>O pâncreas e sua atividade endócrina</i>	23
2.3 <i>A descoberta e o papel da insulina.....</i>	24
2.4. <i>Campo eletromagnético.....</i>	26
2.5. <i>Campo eletromagnético: novas possibilidades ou consequências à saúde?.....</i>	28
2.6 <i>Modelo de Hodgkin e Huxley – Base do modelo das células β-pancreáticas.....</i>	31
2.7 <i>Eletrofisiologia das células β-pancreáticas</i>	35
2.8. <i>Canais iônicos</i>	40
2.9 <i>Canais de potássio.....</i>	42
2.9.1 <i>Canais de potássio voltagem-dependentes (K_v):.....</i>	42
2.9.2 <i>Canais de potássio ativados por Cálcio (K_{Ca}).....</i>	45
2.9.3 <i>Canais de potássio dependente do trifosfato de adenosina (K_{ATP}).....</i>	46
2.10 <i>Canais de Cálcio Dependentes de Voltagem (Ca_v).....</i>	48
3. OBJETIVOS	51
4. REFERÊNCIAS.....	53
CAPÍTULO ÚNICO: 60 HZ ELECTRIC FIELD CHANGES THE MEMBRANE POTENTIAL DURING BURST PHASE IN PANCREATIC B CELLS: <i>IN SILICO</i> ANALYSIS.....	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Composição das ilhotas pancreáticas (MACDONALD, 2006).	23
Figura 2. Composição da onda eletromagnética. http://www.if.ufrgs.br/oei/stars/espectro.htm . Acessado em: 15/03/2012.....	27
Figura 3. O espectro eletromagnético (GENUIS, 2012).	27
Figura 4. Circuito equivalente à membrana celular no modelo de H-H. G_{Na} , G_k são respectivamente as condutâncias aos íons Na^+ e K^+ (mS/cm^2). G_l é uma condutância não específica (leak = vazamento). V_{Na} , I_{Na} , V_k , I_k , V_L e I_L são os potenciais de equilíbrio (mV) e as correntes ($\mu A/cm^2$) para os mesmos íons. C_m é a capacitância específica de membrana em $\mu F/cm^2$ SORIANO (2006).	34
Figura 5. Modelo esquemático da atividade elétrica das células β -pancreáticas para a liberação da insulina e ativação e inativação dos canais de potássio dependentes de ATP e do de cálcio dependente de voltagem (SAINT-MARTIN et al., 2011).	39
Figura 6. Diagrama da topologia do canal de K^+ . O poro transmembrana está representado pelas hélices azuis. As hélices transmembrana adicionais são as marrons e a hélice que forma o “loop” está representada em vermelho. As subunidades K_V contêm seis hélices transmembranas; as hélices S5 e S6 formam o poro, enquanto as hélices S3 e S4 apresentam função de sensor de voltagem (MCCOY, 2012).	43
Figura 7. Os canais K_{IR} contêm duas hélices transmembranares formando a região do poro (azul), assim como uma hélice N-terminal (marrom) e um domínio citoplasmático (verde) que permite o canal ser regulado por diversas substâncias (MCCOY, 2012).	44
Figura 8. As subunidades transmembranares do canal K_{Ca} são topologicamente semelhante aos canais K_V . Os canais $K_{Ca1.1}$ possuem uma hélice transmembrana adicional (S0), totalizando sete hélices. Os canais K_{Ca2} e $K_{Ca3.1}$ têm seis hélices transmembranares como os canais K_V , mas contêm um domínio citoplasmático (MCCOY, 2012).	45
Figura 9. A arquitetura do canal de K_{ATP} das células β -pancreáticas é composta de subunidades Kir6 e SUR1. (A) As influências dos reguladores sobre os canais K_{ATP} em células β do pâncreas: (i) a diminuição de ATP irá sustentar eventos de canal aberto; (ii) ativação dos canais por diazóxido e inibição por tolbutamida. (B) A topologia do canal K^+	

subunidade Kir6.2. (C) A topologia da SUR1 das células β - uma proteína ATP-binding cassette. (D) O canal de K_{ATP} é um complexo heteromultimérico composto de Kir6.2-SUR1 (DUNNE et al., 1999).....47

Figura 10. O controle da liberação de insulina a partir de células β -pancreáticas humanas. Nas células β normais em concentrações não estimulantes de glicose, o potencial de membrana se encontra em repouso (-70 mV), que é determinada pela abertura dos canais K_{ATP} . Quando a concentração de glicose é elevada, o metabolismo da glicose é alterado na célula β . Existe uma limitação de velocidade neste processo que é dependente da atividade da glicoquinase e formação da glicose-6-fosfato (1). Eventos metabólicos subsequentes levam a um aumento do ATP citosólico: o ATP (2) é que fecha os canais de K_{ATP} (3), levando a despolarização da membrana (4) e abertura dos canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem (5). Em seguida, inicia-se a liberação de insulina através de exocitose de grânulos secretórios (6) (DUNNE et al. 1999).....47

Figura 11. A: organização molecular do canal de cálcio voltagem dependente (C_{AV}), subunidades do canal na membrana plasmática. B: topologia das subunidades do canal. C: nomenclatura das subunidades do canal. YANG (2005).....50

Capítulo único:

Fig 1. Electrical activity simulations of pancreatic β -cells (control – A) exposed to sinusoidal electric field with 60 Hz and amplitudes 0.5 mV (B), 1 mV (C), 2 mV (D), 3 mV (E) and 4 mV (F).....80

Fig 2. Burst duration (seconds) of electrical activity simulation in pancreatic β -cells exposed to electric field with 60 Hz and amplitudes from 0.5 mV to 4 mV.81

Fig 3. Inter-bursts intervals of electrical activity simulation in pancreatic β -cells exposed to electric field with 60 Hz and amplitudes from 0.5 mV to 4 mV. * Statistically different from control.....81

Fig 4. Spike per burst of electrical activity simulation in pancreatic β -cells exposed to electric field with 60 Hz and amplitudes from 0.5 mV to 4 mV.82

Fig 5. Spikes size of electrical activity simulation in pancreatic β -cells exposed to electric field with 60 Hz and amplitudes from 0.5 mV to 4 mV.

.....82

Fig 6. Gating particles S1 (thin line) and S2 (thick line) related to K_{Ca} and K_{ATP} channels after interaction with 60 Hz electric field of amplitude 2 mV and 4 mV.....83

Fig 7. Complexity of Lempel-Ziv (CLZ) of membrane potential (mV) and gating particles S_1 and S_2 in β -pancreatic cells after interaction with 60 Hz electric field of amplitudes from 0.5 mV to 4 mV.83

Lista de abreviações

- α : alfa representa a constante da cinética de abertura do canal iônico
- β : beta representa a constante da cinética de fechamento do canal iônico
- ω : ômega é a frequência da onda
- A : amplitude da onda
- ATP: trifosfato de adenosina
- ATPases: enzimas
- Ca^{2+} : cálcio
- Ca_v : canal de cálcio dependente de voltagem
- CEM/EMF: campos eletromagnéticos
- Cl^- : cloreto
- C_m : capacitância da membrana
- DB: duração do burst
- DM: diabetes mellitus
- DMDI: diabetes mellitus dependente de insulina
- DMNDI: diabetes mellitus não dependente de insulina
- DNA: ácido desoxirribonucleico
- dV_M/dt : taxa de variação do potencial elétrico em relação ao tempo
- GLUT2: transportadores de glicose tipo 2
- G_i : condutância da membrana a certa espécie iônica
- G_K : condutância aos íons K^+
- G_l : condutância não específica (leak = vazamento)
- G_{Na} : condutância aos íons Na^+
- h: partículas de gating para células neuronais
- H-H: modelo de Hodgikin e Huxley
- Hz: Hertz
- IIB: intervalos inter-burst
- I_{Ca} : corrente de Ca^{2+}
- I_C : corrente capacitiva
- I_K : corrente rápida de K^+
- I_L : corrente de “leak”
- I_m : corrente de membrana

I_{Na} : potenciais de equilíbrio

I_{S1} : corrente para o K_{Ca} ativada por Ca^{2+} citosólico

I_{S2} : corrente de K_{ATP} ativada pelo aumento da relação ADP/ATP

K^+ : íon potássio

K_{ATP} : canal de potássio dependente de ATP

K_{Ca} : canais de potássio ativados por Cálcio

Kir6: subunidades formadoras de poros

K_{IR} : canais retificadores da corrente de potássio

Kv: canais de potássio voltagem-dependentes

m: partículas de gating para células neuronais

mS/cm^2 : milisiemens por centímetro quadrado

mT: militesla

mV : milivolt

n: partículas de gating para células neuronais

Na^+ : íons sódio

PP: células produtoras de polipeptídeo pancreático

pS: picosiemens

RNA: ácido ribonucleico

s: segundos

S_1 :partículas de gating

S_2 :partículas de gating

SRI: substrato receptor de insulina

SNC: sistema nervoso central

SUR : subunidades receptores de sulfoniluréias

T :tesla

V : voltagem da membrana

V_E : voltage transmembrana

V_i :potencial de equilíbrio do íon

V_K : potencial de equilíbrio do íon potássio

V_L : potencial de equilíbrio do leak

V_{Na} : potencial de equilíbrio do íon sódio

$\mu A/cm^2$: microampère por centímetros quadrado

$\mu F/cm^2$: microfaraday por centímetros quadrado

1. Introdução

A partir da década de 50 ocorreu um vertiginoso aumento no interesse da comunidade científica em esclarecer a estrutura e funcionamento das membranas celulares; portanto houve um aumento à necessidade da construção de modelos que representassem a variação do potencial elétrico e das correntes de íons ao longo de cada via de transporte, especialmente nos canais iônicos da membrana plasmática. Com o advento da técnica do *Patch-Clamp*, os registros de correntes elétricas através dessas vias de transportes e os potenciais elétricos em células isoladas puderam ser registrados, e isto permitiu que modelos teóricos fossem desenvolvidos para simulação desses potenciais e correntes. Além dessas motivações teóricas, o estudo com canais iônicos se consolidou cada vez mais devido a sua relação com algumas doenças (PROKS, 2009). Dentre as quais, o diabetes mellitus tipo II apresenta como uma das características disfunções nos canais iônicos de membrana nas células β -pancreáticas produtoras de insulina.

Por outro lado, estudos têm sido realizados com respeito à exposição humana e de outros animais a fontes de radiação eletromagnética convencional, especialmente a campos eletromagnéticos (CEM) de baixa frequência gerados pela eletrificação das cidades e uso de equipamentos eletrônicos (SZEMERSZKY et al., 2010) e os resultados obtidos têm mostrado que o CEM de baixa frequência pode interferir na dinâmica do fluxo de íons através das membranas em células excitáveis (BLANK, 2001). Este fato gerou a hipótese de que a exposição a campos eletromagnéticos de 60 Hz poderia afetar a secreção de insulina e, desta forma, estarem envolvidos, direta ou indiretamente, com o diabetes mellitus tipo II, como agentes capazes de auxiliar a secreção de insulina por promover a despolarização da membrana (SIERÓN, 2007).

Diversas pesquisas sugerem que a exposição ao CEM de baixa frequência afeta várias funções celulares através de proteínas da membrana, incluindo os canais iônicos, receptores e enzimas (SIERÓN, 2007). Estudos indicam que o CEM de baixa frequência pode interagir com o comportamento de diversos íons, incluindo os presentes nas células neuronais (COSTA et al., 2001; WANG et al., 2011). Portanto, o estudo da interação entre os CEM e os canais iônicos das células β -pancreáticas possui grande importância na endocrinologia, na saúde humana e de outros animais. Considerando que o CEM pode estimular a atividade elétrica das células β -pancreáticas e em decorrência a secreção de insulina, pode-se propor o seu uso como terapia alternativa no tratamento daqueles indivíduos que são resistentes à insulino - terapia.

Em modelos teóricos (semelhantes ao de Hogkin e Huxley para neurônios) existentes para as células β -pancreáticas pode ser inserida a presença de campos eletromagnéticos tanto de baixa como de alta frequência e que podem interferir na cinética dos canais iônicos. As modelagens apresentam grande fidelidade com os dados experimentais, sendo chamados de estudos *in silico*, elucidando novos fenômenos e auxiliando na compreensão dos possíveis efeitos biológicos dos CEM. Com o advento da computação ocorrido na metade do século XX e o grande avanço da capacidade e da velocidade computacional, atualmente é possível simular com grande eficácia diversos processos biológicos utilizando dados experimentais já produzidos. Desta forma, será de grande importância investigar, usando um modelo do tipo H-H, se uma voltagem senoidal de baixa frequência (60 Hz) e intensidade pode alterar o perfil elétrico da membrana das células β -pancreáticas, e em decorrência disto, o mecanismo da secreção de insulina.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Diabetes e seus tipos

Diabetes Mellitus (DM) é uma doença sistêmica que surge quando a liberação de insulina a partir de células β -pancreáticas deixa de manter os níveis de glicose no sangue nas condições normais (D'ALEO et al. 2011). Esta doença consiste num distúrbio que compromete o metabolismo de proteínas, carboidratos e gorduras devido à deficiência funcional da insulina, que pode ser caracterizada por uma elevação da glicemia no jejum. As alterações metabólicas causadas pela liberação inadequada de insulina são agravadas por um excesso de glucagon. Este metabolismo anormal acarreta em hiperglicemia, resultando em um elevado risco de complicações visuais, renais e neurológicas (NATHAN, 2009).

O Diabetes Mellitus é a doença crônica mais comum em quase todos os países e apresenta relação com o desenvolvimento econômico e urbanização, que levam a estilos de vida caracterizados por atividade física reduzida e obesidade aumentada. Nos últimos 10 anos, o aumento da prevalência do diabetes tem sido uma preocupação crescente. Previsões futuras da incidência de diabetes têm estimado que o número de pessoas com o problema deve aumentar em mais de 50% de 2010-2030, com o maior aumento nos países em desenvolvimento, incluindo o Brasil. Sendo que uma proporção significativa de indivíduos portadores de diabetes permanece sem diagnóstico (WESTERHAUS, 2011; VISTISEN et al. 2012; TABATABAEI-MALAZY et al. 2013).

As estimativas do diabetes são importantes para atribuir recursos comunitários de saúde, enfatizar o papel do estilo de vida e incentivar medidas para reverter às tendências do desenvolvimento do diabetes. O crescimento demográfico, o envelhecimento das populações e urbanização pode conduzir a um aumento no número de diabéticos em todo o mundo nos próximos anos (WHITING et al. 2011).

O DM representa uma das principais causas de doenças cardiovasculares, morbidade e mortalidade nos países ocidentais. Complicações macrovasculares manifestam-se como a aterosclerose, resultando em um aumento de 2 a 4 vezes em doença cardíaca coronariana e de três vezes no risco de doença cerebrovascular (DAVÍ, 2012).

Um estudo realizado no Brasil no final dos anos 1980 mostrou prevalência de 7,6% de diabetes em pessoas com idade entre 30 a 69 anos. Vale ressaltar que quase 50% dos diagnosticados com diabetes não estavam cientes de sua doença e apenas 25% relataram ter recebido cuidados. Mais recentes estudos regionais mostraram um aumento nas taxas de

prevalência: 12,1% na cidade de Ribeirão Preto, 12,4% em Porto Alegre e 13,5% em São Carlos (BAHIA et al. 2012).

De acordo com a disfunção metabólica, o diabetes pode ser apresentado de duas formas: o diabetes tipo 1 e o diabetes tipo 2.

O diabetes tipo 1 (Diabetes Mellitus Dependente de Insulina -DMDI) é uma doença crônica autoimune. Provoca inflamação da ilhota que ocorre provavelmente no processo da resposta imunológica contra as células β - pancreáticas do próprio organismo. A evolução da inflamação e sua progressão para um potencial diabetes clínico dependem provavelmente da interação entre o perfil genético do paciente e os fatores ambientais (COLLI et al. 2010). No DMDI as células do pâncreas são destruídas e os pacientes com esta forma da doença necessitam de insulina exógena para normalizar os níveis de glicose no plasma (RORSMAN et al. 2011). Os pacientes com DMDI precisam de tratamento com insulina permanentemente, o qual irá depender do equilíbrio entre a secreção e resistência à insulina (MIGDALIS, 2011).

O Diabetes mellitus tipo 2 (Diabetes Mellitus Não Dependente de Inulina- DMNDI) é uma doença metabólica que resulta de uma interação entre predisposição genética e fatores ambientais. A patogênese do DMNDI é caracterizada por uma combinação da resistência à insulina e uma deficiência relativa na produção deste hormônio, devido uma disfunção das células β -pancreáticas, resultando em hiperglicemia e outros distúrbios metabólicos (ROSENGREN,2010 ; WESTERHAUS,2011; D'ALEO et al. 2011;SCHOEPF et al.2012).

Os indivíduos com resistência à insulina precisam de mais insulina para promover a absorção de glicose por tecidos periféricos. Indivíduos geneticamente predispostos podem não ter a capacidade de produzir a secreção necessária deste hormônio nas células β -pancreáticas. Entretanto, estudos relataram que, indivíduos com DMNDI apresentam diminuição tanto na massa de células β - pancreáticas, quanto nos grânulos de secreção de insulina (GASTALDELLI, 2011).

Portanto, o DMNDI é responsável por cerca de 85-95% dos muitos casos de diabetes. Entre os fatores considerados responsáveis pelo aumento acentuado da prevalência estão o envelhecimento da população, excesso de peso, um estilo de vida sedentário, dieta irregular e obesidade (BARONE, 2011).

A insulina é administrada para todos os pacientes com diabetes tipo 1 e para pacientes com diabetes tipo 2 se o teor glicêmico adequado não puder ser alcançado através de terapia não farmacológica ou antidiabética oral (SANCHES et al. 2011).

2.2 O pâncreas e sua atividade endócrina

No pâncreas as células são organizadas em grupos e conectadas através de junções. Esses aglomerados, chamados de ilhotas de Langerhans representam um sincício funcional interligado (ASLANIDI et al. 2001). As ilhotas são constituídas por quatro tipos de células diferentes para a produção hormonal: células beta (β) produtoras de insulina, células alfa produtoras do glucagon, células delta produtoras de somatostatina e as células PP produtoras de polipeptídeo pancreático (QUESADA et al. 2008; EBERHARD, 2009; THOREL et al. 2010).

As ilhotas pancreáticas são constituídas por aproximadamente 1000 células endócrinas que agrupadas possuem um diâmetro de 100 a 200 μ m. As células β -pancreáticas estão localizadas na parte mais interna das ilhotas, enquanto as outras células que as compõem situam-se na periferia (RORSMAN et al. 2011).

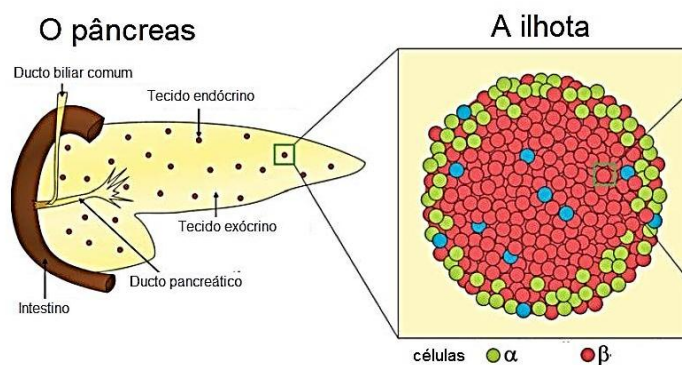


Figura 1. Composição das ilhotas pancreáticas (MACDONALD, 2006).

O pâncreas endócrino é um regulador chave da homeostase da glicose, secreta insulina através das células β - pancreáticas em resposta a elevação na concentração de glicose no sangue (PEDERSEN, 2007; BERTRAM, 2010). A parte endócrina do pâncreas também é alvo dos sistemas simpático e parassimpático, através do qual o hipotálamo exerce o controle sobre níveis de insulina no sangue (BERTRAM et al. 2000).

Para controlar o teor de glicose no sangue, ocorrem alterações características nas propriedades biofísicas das células β -pancreáticas: potenciais de ação são gerados e as células

despolarizam parcialmente, indicando uma mudança acentuada na permeabilidade da membrana (DEAN & MATTHEWS, 1970). A atividade elétrica das células β -pancreáticas depende de canais iônicos, sendo o seu principal mecanismo a concentração de cálcio (Ca^{2+}) no citossol. Durante a fase ativa dos potenciais o Ca^{2+} entra na célula através de canais de cálcio voltagem dependentes, elevando a concentração desse íon. Durante a fase silenciosa, o Ca^{2+} é removido do citossol por bombas de cálcio, diminuindo sua concentração (FRIDLAND, 2010).

Assim, durante a ativação celular com oscilação do Ca^{2+} gera-se o “*Bursting*” (em inglês = explosão, mas fisiologicamente significa picos na fase ativa do potencial de membrana com oscilações de cálcio e secreção de insulina), que foi relatado pela primeira vez em estudos *in vitro* de ilhotas por Dean e Mathews (1970), e desde então tem sido rotineiramente observado e bem caracterizado por muitos estudos (BERTRAM, 2010). Os “*Burstings*” de potenciais de ação são repetitivos e intimamente relacionados com a regulação da glicose induzida por secreção de insulina em células β -pancreáticas (BARG et al. 2001; CHA, 2011). O influxo de Ca^{2+} induz a secreção de insulina e assim, regulação dos níveis de glicose no organismo (TARVINDER et al. 2009).

2.3 A descoberta e o papel da insulina

A insulina é uma proteína com 51 aminoácidos arranjados em duas cadeias, designadas de A e B, as quais estão ligadas por pontes de dissulfeto e que desempenha importantes papéis fisiológicos e metabólicos nos animais (CHAKRABORTYA et al. 2012). Na maioria dos tecidos, como o fígado, músculo e tecido adiposo, a insulina tem capacidade de ligar-se a receptores específicos de alta afinidade na membrana celular. Este é o primeiro passo em uma cascata de reações biológicas (CHAKRABORTYA et al. 2012).

A exocitose de insulina envolve um padrão característico da atividade elétrica. Em jejum, o potencial de membrana de células β -pancreáticas é aproximadamente -60 mV. Um aumento na concentração de glicose provoca, devido ao fechamento dos canais de potássio ativados por ATP, uma despolarização gradual gerando os potenciais de ação. Esta resposta é importante, pois resulta na abertura de canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem e, em consequência, um aumento do Ca^{2+} citosólico que ativa o mecanismo de exocitose das vesículas insulínicas (BEST, 2005; RORSMAN et al. 2011).

A liberação da insulina é bifásica: uma primeira fase rápida de secreção é seguida por uma segunda, com liberação mais lenta. A insulina está contida em grânulos secretores e antes de sua liberação, estes são transportados para a membrana plasmática por microtúbulos. Na membrana plasmática, os grânulos são fundidos e a insulina liberada devido a fatores tais como, nível do Ca^{2+} citosólico, temperatura e processos dependentes de ATP (BANSAL, 2008; TENGHOLM, 2009; PEDERSEN, 2011).

Nos tecidos, a insulina induz um aumento no número de transportadores de glicose na membrana celular, que transporta a glicose fosforilada para o interior da célula, onde sofre regulação de outros hormônios. A insulina é anabólica e, portanto, aumenta o armazenamento de glicose, ácidos graxos e aminoácidos. O excesso de insulina causa hipoglicemia, podendo resultar em convulsões e coma (BAYNES, 2007).

O receptor da insulina é sintetizado como um polipeptídeo único, que é glicosilado e clivado em subunidades alfa e beta, as quais são reunidas em um tetrâmero unido por ligações de dissulfeto. Um domínio hidrofóbico em cada subunidade beta atravessa a membrana plasmática. A subunidade alfa extracelular contém um sítio de ligação da insulina. O domínio citosólico da subunidade beta é uma tirosina quinase, a qual é ativada pela insulina. A ligação da insulina às subunidades alfa do seu receptor induz alterações conformacionais que são transmitidas para as subunidades beta, promovendo uma auto fosforilação rápida de um resíduo específico de tirosina de cada subunidade beta. Entretanto, as moléculas que conectam a atividade da tirosina quinase do receptor aos efeitos intracelulares da insulina não estão completamente estabelecidas (BAYNES, 2007; FRÖJDÖ, 2009).

Sabe-se que algumas ações da insulina são mediadas por fosforilação ou desfosforilação de resíduos de serina ou treonina das proteínas alvo. Assim, foi proposto que a atividade da tirosina quinase do receptor leva a fosforilação das tirosinas de um peptídeo, denominado substrato receptor de insulina (SRI). O SRI fosforilado parece interagir com uma série de proteínas intracelulares. Assim, a ligação à insulina desencadeia uma cascata complexa de reações de fosforilação e desfosforilação (BAYNES, 2007).

A sinalização da insulina além de desempenhar um papel central no controle dos níveis de glicose no plasma atua como sinalização do estado de reservas corporais de energia para os reguladores de homeostase energética central (hipotálamo) (DAWSA et al. 2011).

Uma função menos conhecida é o importante papel que a insulina desempenha na regulação de funções moleculares e celulares dentro do sistema nervoso central (SNC), tais como o neurodesenvolvimento, a sobrevivência da célula, a neurogênese e a liberação dos neurotransmissores (DAWSA et al. 2011). Dado este conjunto diversificado de alvos moleculares e celulares no SNC, não é surpreendente que a sinalização de insulina tem sido sugerida estar envolvida com numerosas funções cerebrais, incluindo a aprendizagem, memória, excitação, apetite e humor, e que as interrupções na sinalização da insulina pode contribuir para uma ampla gama de perturbações relacionadas com o cérebro (DAWSA et al. 2011). Portanto, o nível de insulina em circulação tem de ser firmemente controlado para evitar a desregulação de várias funções metabólicas (DOFOUR et al. 2010).

2.4. Campo eletromagnético

Em todo o mundo, tem havido um intenso debate envolvendo o público em geral, cientistas, jornalistas e empresas de telecomunicações, todos tentando responder à pergunta básica: A biologia é compatível com os níveis crescentes de campos eletromagnéticos (CEM)? Somos imunes a esses sinais, ou estamos na verdade jogando com o futuro nosso do planeta, colocando a vida em jogo? As respostas parecem ser: Não, não somos projetados para tais exposições a CEM. Nós não somos imunes, estamos jogando com o nosso futuro (SONMEZA et al. 2010).

Os seres humanos têm sido constantemente expostos a campos eletromagnéticos, incluindo a luz solar, raios cósmicos e radiações terrestres. No entanto, houve um aumento substancial da exposição, especialmente para baixa frequência eletromagnética. No início do século XX, com a geração de campos eletromagnéticos artificiais, continuou o desenvolvimento de usinas de energia, rádio, radar, televisão, computadores, telefones celulares, fornos de micro-ondas, e numerosos dispositivos utilizados em medicina e na indústria. Estes avanços tecnológicos têm despertado preocupações sobre os potenciais riscos à saúde associado a níveis sem precedentes de exposição a campos de baixa frequência (CALVENTE et al. 2010).

Uma onda eletromagnética é composta por um campo elétrico e um campo magnético, perpendiculares entre si, gerados por uma de corrente alternada (SONMEZA et al. 2010).

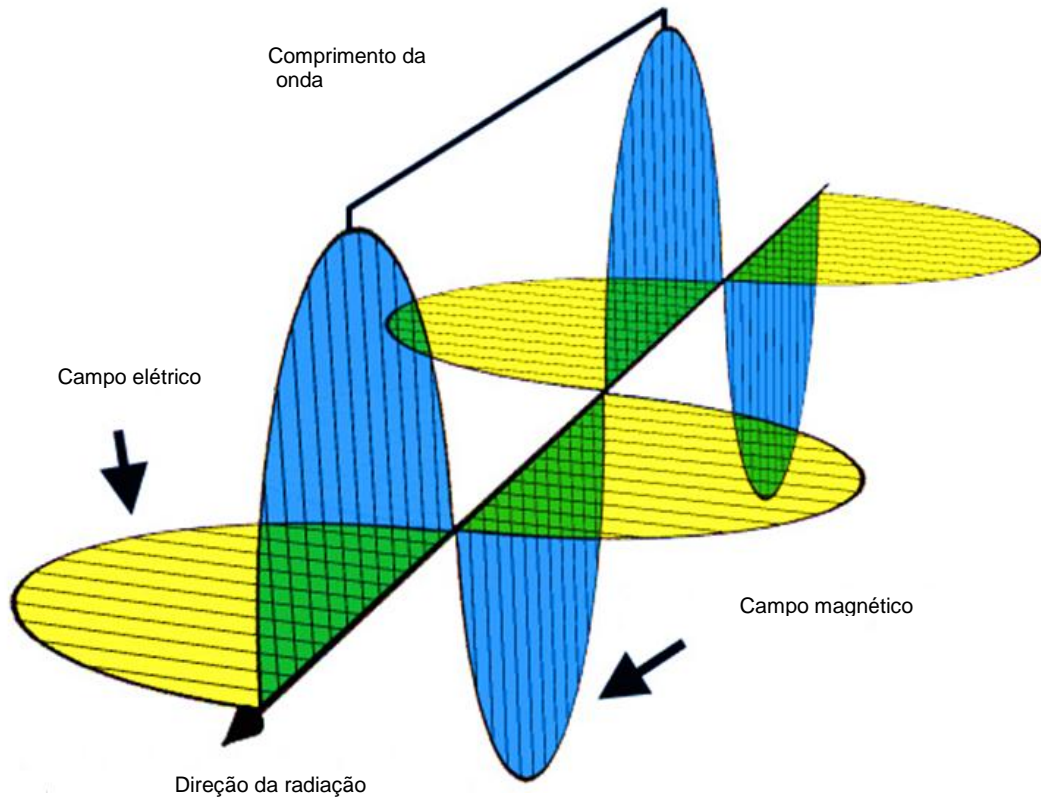


Figura 2. Composição da onda eletromagnética. <http://www.if.ufrgs.br/oei/stars/espectro.htm>. Acessado em: 15/03/2012.

Conforme os seus efeitos sobre o organismo, a radiação pode ser dividida em ionizante (incluindo a de alta frequência, como raios gama e raios-X) e a não ionizante (baixa a muito baixa frequência) (CALVENTE et al. 2010).

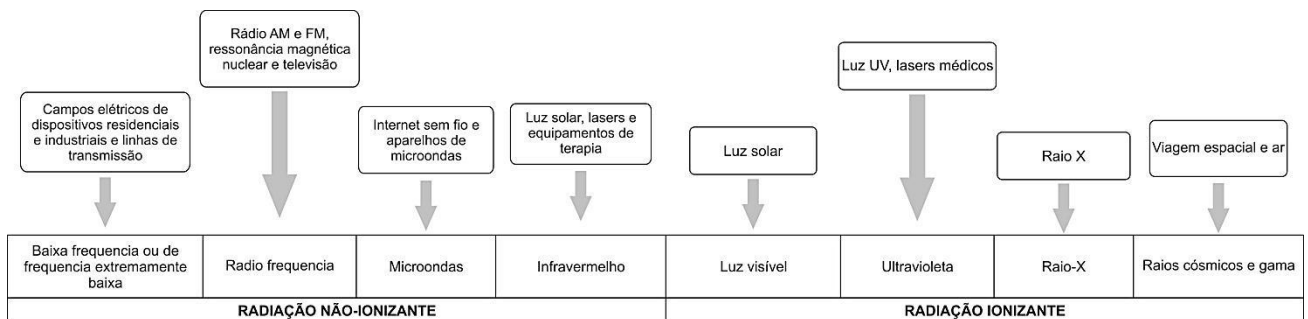


Figura 3. O espectro eletromagnético (GENUIS, 2012).

2.5. Campo eletromagnético: novas possibilidades ou consequências à saúde?

A explosão das aplicações tecnológicas relacionadas à energia elétrica é característica do século 21. Como consequência, na vida cotidiana, a população é continuamente exposta a fontes artificiais de radiação não ionizante, por exemplo, o CEM de frequência extremamente baixa (50 - 60 Hz). A exposição às radiações não ionizantes leva a preocupações de curto e longo prazo acerca dos possíveis efeitos adversos na saúde humana. Várias pesquisas vêm sendo dedicadas a estudar a ligação entre a exposição a campos eletromagnéticos e a saúde humana. A primeira correlação epidemiológica entre radiação eletromagnética de baixa frequência e o aparecimento de doenças humanas foi relatada por Wertheimer e Leeper (1979), os quais observaram que crianças que viviam perto de regiões com incidência de CEM em Denver, no Colorado, apresentavam um risco aumentado para desenvolver leucemia (BERNABO et al. 2010).

Os resultados e conclusões na literatura ainda são controversos, pois alguns cientistas sugerem a existência de riscos graves à saúde devido a exposição ao CEM, enquanto outros indicam que interagem com o corpo humano, mas não apresentam efeitos relevantes. Alguns citam que os CEM podem influenciar íons e os processos dependentes do potencial de membrana, tais como o influxo de Ca^{2+} através de canais iônicos e ATPases transportadoras (BLANK, 2001; LIBURDY et al, 1993; GRASSI et al. 2004; KUO, 2012). Tem sido demonstrado que o campo eletromagnético tem efeito sobre os componentes do sistema imunológico *in vivo* por alterações nos níveis de células sanguíneas em camundongos e ratos, provavelmente causados pela proliferação alterada de linfócitos (KLEIJN et al. 2011).

Mais recentemente pesquisas vêm mostrando que a exposição a CEM poderia induzir efeitos positivos em sistemas neuronais afetados por doenças neurodegenerativas, como Alzheimer (MESITI et al. 2012). Porém, segundo Giudice et al. (2007), a exposição a CEM de baixa frequência pode aumentar o risco de desenvolver diferentes doenças humanas, incluindo os distúrbios da função do ritmo cardíaco, tumores, leucemia e doenças de Alzheimer e Parkinson.

Os CEM podem alterar os níveis de energia e a orientação de spins de elétrons, e como consequência aumentar a concentração de atividade e tempo de vida de radicais livres. Vários

relatos indicaram que os CEM aumentam a atividade de radicais livres nas células, através da reação catalítica que os converte em peróxidos de hidrogênio. A exposição ao CEM resulta no aumento da produção de radical livre, o que pode ser considerado um plausível mecanismo biológico para carcinogênese (AYDINA, 2011; MAAROUFI et al. 2011; BETTA, 2012).

Os efeitos biológicos dos CEM têm sido objeto de estudos detalhados, pois estes podem penetrar mais profundamente nos tecidos. Por exemplo, demonstrou-se que o CEM pode atuar a nível celular afetando várias funções, incluindo proliferação e diferenciação, apoptose, síntese de DNA, transcrição de RNA, expressão de proteínas, fosforilação, síntese de ATP, produção de hormônios e atividade de enzima antioxidante (CIFRA 2011).

Por outro lado, os efeitos dos CEM vêm sendo utilizados como método não invasivo eficaz para a prevenção e tratamento da osteoporose, experimentalmente e clinicamente, desde os anos 1970. Tem sido demonstrado que estes campos são capazes de prevenir a perda óssea por osteoporose em modelos animais. Investigações clínicas confirmaram ainda que os CEM poderiam ajudar a melhorar a densidade mineral óssea e inibir a perda óssea em pacientes humanos (JING et al. 2010). Estes CEM também podem elevar a produção de colágeno e proteoglicanos em cartilagem das articulações em bovinos, bem como a expressão do gene de algumas macromoléculas da cartilagem em bovinos e humanos. É possível que o CEM possa atuar na atenuação dos sintomas da osteoartrite de joelho e o alívio da dor (JABERI et al. 2011).

Sabe-se que as ilhotas pancreáticas desempenham um papel fundamental na regulação dos níveis de glicose no sangue, a secreção de quantidades insuficientes dos hormônios das ilhotas é à base do diabetes. Portanto, torna-se importante avaliar os efeitos no pâncreas da exposição ao CEM. Os estudos avaliando a influência da exposição a CEM em ilhotas pancreáticas são escassos e controversos, sendo difícil comparar os estudos existentes por causa dos diferentes métodos de pesquisa utilizados.

JOELLY et al. (1983) relatou que o conteúdo de íons de cálcio e o efluxo desses íons e a secreção de insulina durante a estimulação de glicose foram reduzidas quando ilhotas isoladas de coelhos foram expostas a CEM de baixa frequência. Outros pesquisadores relataram que a exposição a campos eletromagnéticos de baixa frequência inibia a liberação

de insulina a partir de ilhotas isoladas de ratos recém-nascidos estimulados por concentrações de glicose elevadas (HAYEK et al. ,1984).

Pesquisas também relataram que a exposição de ratos a CEM de baixa frequência em longo prazo levou ao aumento da síntese e secreção de insulina (LAITL-KOBIERSKA, 2002). SAKURAI et al. (2004) verificou os efeitos da exposição a um campo magnético de frequência extremamente baixa sobre a secreção de insulina a partir de uma linhagem de células de ilhotas. A cultura de células foi exposta um campo de 5 mT e 60 Hz , os resultados sugeriram que a exposição atenua a secreção de insulina e afeta o influxo de cálcio através de canais de cálcio dependentes de voltagem.

Foi demonstrado que campo magnético de frequência extremamente baixa diminuiu o estímulo de glicose e a secreção de insulina em culturas de células β - pancreáticas, impedindo os aumentos da relação ATP/ADP e da concentração de íon de cálcio. Estes resultados demonstram o potencial de exposição ao CEM para uso clínico como um novo método de inibição da secreção de insulina. Desta forma, se a exposição à CEM é benéfica para as células secretoras de insulina, pode ser possível utilizar a exposição a CEM para aplicações médicas, principalmente a terapêutica do diabetes (SAKURAI et al. 2005).

Como já existem indícios de que os CEM podem interagir e alterar os mecanismos que controlam o nível citoplasmático de Ca^{2+} , assim, avaliar os efeitos dos CEM sobre a corrente deste íon nas células β -pancreáticas pode ser de fundamental importância para compreender a relação entre os efeitos dos CEM e a diabetes. Quando a concentração de glicose é aumentada, a insulina é secretada por células β - pancreáticas e esta secreção é sustentada pelas oscilações de Ca^{2+} , que ocorrem de forma sincrônica em todas as ilhotas pancreáticas. Alguns dos canais estão envolvidos neste processo, porém é iniciado pelos canais de potássio ativados por ATP (K_{ATP}), que são os responsáveis por iniciar a cascata de reações que ativarão os canais de cálcio e todo ciclo das células β -pancreáticas (MADEC et al. 2003).

2.6 Modelo de Hodgkin e Huxley – Base do modelo das células β -pancreáticas

O primeiro modelo matemático da atividade elétrica da membrana neuronal foi publicado por Hodgkin e Huxley em 1952. Este trabalho foi desenvolvido a partir da descrição de dados experimentais de correntes em membrana de axônio através de parâmetros quantitativos, consiste num excelente projeto teórico-experimental e é um exemplo clássico de investigação em bioengenharia (CHAVARETTE et al. 2009; WANG et al. 2011; CROTTY e SANGREY, 2012).

O modelo de Hodgkin-Huxley (HH) é um dos mais realistas para sistemas neuronais e pode simular as respostas do potencial de ação com muito sucesso, tornando a pesquisa da atividade fisiológica das células nervosas muito promissoras (WANG et al. 2009). Este modelo descreve excitações elétricas em axônio gigante de lula e serve como protótipo para modelos em células excitáveis (CHAVARETTE et al. 2009; KOCHERGINSKY, 2009; CHE et al. 2012).

Experiências realizadas anteriormente já tinham mostrado que as membranas biológicas se comportavam como circuitos RC em paralelo, portanto a corrente elétrica se deveria tanto a uma corrente iônica quanto a uma capacitiva:

Equação 1. Corrente da membrana

$$I_M = I_C + I_i = C_M (dV_M/dt) + I_i$$

Em que I_M é a corrente total através da membrana, I_C , a corrente capacitiva, I_i , a corrente iônica, C_M , a capacitância da membrana, e dV_M/dt , a taxa de variação do potencial elétrico em relação ao tempo. A corrente iônica (I_i) pode ser expressa como se segue:

Equação 2. Corrente iônica

$$I_i = G_i(V - V_i)$$

em que G_i é a condutância da membrana a certa espécie iônica, e V , a voltagem da membrana e V_i o potencial de equilíbrio do íon. Durante o fenômeno da excitabilidade celular as grandezas I_i , G_i e V variam ao longo do tempo (NOGUEIRA in CURI et al, 2005).

Hodgkin e Huxley, visando estudar o comportamento da corrente e da condutância da membrana em uma determinada voltagem, desenvolveram uma técnica que permite fixar voltagem através da membrana, denominada *voltage-clamp* (NOGUEIRA in CURI et al, 2005). Esse método de fixar voltagem permitiu medir as correntes iônicas através da membrana da célula excitável (corrente macroscópica). A corrente macroscópica resulta da passagem de íons através de uma população de canais iônicos. Atualmente, a técnica de *patch-clamp* permite medir a passagem de íons através de um único canal iônico, que são denominadas de correntes microscópicas (NOGUEIRA in CURI et al, 2005).

Hodgkin e Huxley propuseram uma interpretação física para o modelo matemático. Supuseram a existência de partículas (n , m e h) carregadas negativamente no interior da membrana e que as alterações na condutância ao sódio e ao potássio seriam devido à movimentação dessas partículas em resposta a variação de voltagem. Atualmente, sabe-se que as partículas m , n e h correspondem a resíduos de aminoácidos que orientam a cinética dos canais iônicos. Dessa forma, a condutância ao potássio aumentaria quando quatro partículas n (expoente de n na equação 3) saíssem de um sítio próximo a superfície externa e chegassem a um outro, próximo a superfície interna da membrana (COSTA, 1997; SORIANO, 2006).

Equações 3. Corrente de potássio e partícula de gating

$$I_K = G_K n^4 (V - V_K)$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n \cdot (1 - n) - \beta_n \cdot n$$

Os coeficientes α e β representam as constantes da cinética de abertura e fechamento do canal iônico. Assim, α_n mede a taxa com que o canal de K^+ muda do estado fechado para o aberto. O contrário ocorre com β_n (COSTA, 1997).

A condutância ao sódio tem dois processos, um de ativação, envolvendo partículas m e outro de inativação envolvendo partículas h (Equações 4).

Equações 4. Corrente de sódio e partículas de gatings m e h

$$I_{Na} = G_{Na} m^3 h (V - V_{Na})$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m \cdot (1 - m) - \beta_m \cdot m$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h \cdot (1 - h) - \beta_h \cdot h$$

Assim, a condutância ao sódio é aumentada quando três partículas m chegarem aos seus locais de ativação e a partícula h não estiver neste local. Quando h estiver posicionado no seu sitio de inativação a condutância ao sódio é inativada. α_m e β_m tem o mesmo significado de α_n e β_n , porém o canal envolvido é o do íon sódio (COSTA, 1997).

Os ajustes matemáticos feitos por Hodgkin-Huxley em suas equações permite prever o curso temporal do “potencial de ação propagado”. O potencial de membrana teórico é calculado a partir da equação 5:

Equação 5. O potencial de membrana teórico

$$\frac{dV}{dt} = \frac{1}{Cm} \cdot (I_{st} - I_{Na} - I_K - I_l)$$

A corrente de membrana é a soma das correntes capacitiva, corrente do íon K^+ , corrente de Na^+ e corrente de “Leak”(vazamento) (COSTA, 1997). Funcionalmente, o comportamento representado pelo conjunto de equações, também pode ser descrito em termos de um sistema de circuito elétrico, ilustrado na figura 4 (SORIANO, 2006; CHAVARETTE et al. 2009).

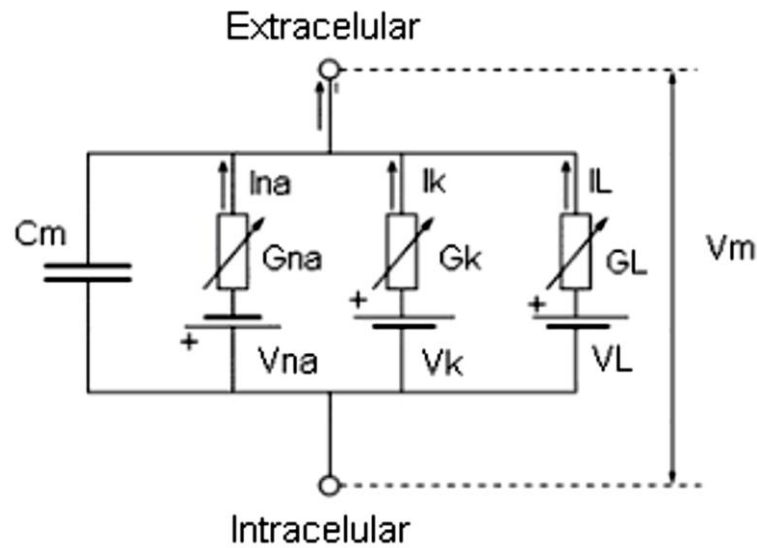


Figura 4. Circuito equivalente à membrana celular no modelo de H-H. G_{Na} , G_k são respectivamente as condutâncias aos íons Na^+ e K^+ (mS/cm^2). G_l é uma condutância não específica (leak = vazamento). V_{Na} , I_{Na} , V_K , I_K , V_L e I_L são os potenciais de equilíbrio (mV) e as correntes ($\mu A/cm^2$) para os mesmos íons. C_m é a capacitância específica de membrana em $\mu F/cm^2$ SORIANO (2006).

Na tabela 1 encontram-se descritos os parâmetros para o modelo de HH (Che et al., 2009).

Tabela 1. Parâmetros fixados para o modelo de HH. CHE et al. (2009)

Parâmetros	Valores	Unidades	Variáveis
Cm	1,0	$\mu F/cm^2$	Capacitância da membrana
V_{Na}	115	mV	Potencial de equilíbrio do sódio
V_K	-12	mV	Potencial de equilíbrio do potássio
V_l	10,599	mV	Potencial de equilíbrio da corrente de Leak
gNa	120	mS/cm^2	Condutância máxima de sódio
gl	0,3	mS/cm^2	Condutância máxima de Leak
gK	36	mS/cm^2	Condutância máxima de potássio

Pesquisas atuais visam testar o modelo de HH através de simulação computacional, para obter informações sobre o comportamento elétrico neuronal. CHE et al. (2012); Wang et al. (2009) verificaram a possibilidade da interação do campo elétrico e a excitabilidade

neuronal em condições fisiológicas normais. Portanto, a investigação da interação do campo elétrico externo no modelo de HH pode auxiliar a esclarecer os efeitos dos CEM no transporte através da membrana plasmática. A resposta dos neurônios à estimulação elétrica externa varia dependendo das características do neurônio e da estimulação.

2.7 Eletrofisiologia das células β -pancreáticas

O metabolismo da glicose tem um papel fundamental na sinalização das células β do pâncreas, células secretoras de insulina localizadas nas ilhotas de Langerhans. Além da função fundamental que o trifosfato de adenosina (ATP) desempenha no metabolismo energético da célula, também é importante o fornecimento de informações sobre o nível de glicemia para a célula e a regulação da secreção de níveis apropriados de insulina (BERTRAM et al. 2007; WATTS et al. 2011).

As células β -pancreáticas possuem características de particular interesse na eletrofisiologia, pois envolve uma relação entre o metabolismo celular e a condutância da membrana. As células β -pancreáticas quando perfundidas em glicose exibem um padrão característico de atividade elétrica, chamado de “*burst*”. Este consiste de uma fase ativa da membrana plasmática, com potenciais partindo de -60 mV para -25 mV; também são observados rápidos picos de atividade elétrica seguidas por fases de silêncio em -60 mV, onde o potencial sobe lentamente até atingir o limiar de excitabilidade dessa célula, quando o processo de “*burst*” se repete (FRIDLAND et al.,2007; SHERMAN,2010).

“*Burstings*” repetitivos de fase ativa de potencial estão intimamente relacionados com a regulação da glicose induzida por secreção de insulina nas células β -pancreáticas. Simulação com modelos matemáticos de células β -pancreáticas têm contribuído para estabelecer que os eventos de *burst* são gerados pelos mecanismos de *gating* rápidos e lentos que controlam o potencial nas células β -pancreáticas (CHA, 2011). Recentemente, diversos modelos detalhados têm sido desenvolvidos para simular uma atividade elétrica mais realista das células β -pancreáticas com base nos achados cada vez mais esclarecedores sobre as características biofísicas dos componentes celulares. Células β -pancreáticas são eletricamente excitáveis e os seus sinais eletrofisiológicos desempenham um papel crucial no estímulo e secreção da insulina (CHA, 2011). Para desenvolver o modelo descrito neste trabalho, Bertram et al. (2000) utilizaram na obtenção dos dados experimentais a técnica do *Dynamic*

clamp, em que a partir de células isoladas, cultivadas e visualizadas através de um microscópio invertido, obtém-se uma resposta do potencial de membrana da célula em cada instante de tempo. Esses dados são inseridos em um programa de simulação da atividade elétrica da célula, que através de um modelo matemático gera um potencial de membrana “modelado”.

Modelos matemáticos de células β -pancreáticas foram construídos de modo a descrever o *burst*. O primeiro modelo baseado nos conceitos de Hodgkin-Huxley para células β -pancreáticas foi desenvolvido por Chay e Keizer (1983) e, posteriormente, foi sendo modificado por BERTRAM et al. 2000; por BERTRAM et al. 2004; por BERTRAM et al. 2007 e por WATTS et al. 2011 e atualmente são descrito pelas equações abaixo:

Equações 6. Correntes de cálcio (I_{Ca}), potássio(I_K) e vazamento (Leak)

$$I_{Ca} = G_{Ca}m_{\infty}(V)(V - V_{Ca})$$

$$I_K = G_Kn(V - V_K)$$

$$I_{S_1} = G_{S_1}S_1(V - V_K)$$

$$I_{S_2} = G_{S_2}S_2(V - V_K)$$

$$I_l = G_L (V - V_L)$$

As equações acima correspondem as correntes iônicas principais da célula β -pancreática que são responsáveis pela secreção e exocitose de insulina. I_{Ca} é a corrente de Ca^{2+} que é ativada instantaneamente na presença de Ca^{+2} , I_K é a corrente rápida de K^+ e I_L é a corrente de vazamento. No modelo de BERTRAM et al. (2000) a I_{S_1} é a corrente para o K_{Ca} , ativada por Ca^{2+} citosólico e para I_{S_2} é a corrente de K_{ATP} ativada pelo aumento da relação ADP/ATP. As Correntes I_{S_1} e I_{S_2} são correntes repolarizantes de feedback negativo.

Equações 7. Corrente total da membrana.

$$\frac{dV}{dt} = -(I_{Ca} + I_K + I_{S_1} + I_{S_2} + I_l)/Cm$$

Equações 8. Equações das variações de n, S_1 e S_2 .

$$\frac{dn}{dt} = (n_{\infty}(V) - n)/t_n$$

$$\frac{dS_1}{dt} = (S_{1\infty}(V) - S_1)/t_{S1}$$

$$\frac{dS_2}{dt} = (S_{2\infty}(V) - S_2)/t_{S2}$$

As equações acima correspondem a um conjunto de equações diferenciais que apresentam como função regular os estados abertos e fechados dos canais existentes nas células β - pancreáticas e são denominadas de partículas de gating de ativação. Neste modelo cada canal precisa apenas de uma partícula de gating para mudar sua conformação. Nas equações (7) são inseridas as equações (9), que descrevem os valores das partículas de gating m , n , S_1 e S_2 no estado estacionário e $t_n(V)$ é a constante de tempo da partícula n .

Equações 9. As curvas de ativação para m , n , S_1 e S_2 são funções tipo sigmoidal de Boltzmann que aumentam com o potencial de membrana.

$$m_{\infty}(V) = \frac{1}{1 + \exp[(-22 - V)/7.5]}$$

$$n_{\infty}(V) = \frac{1}{1 + \exp[(-9 - V)/10]}$$

$$S_{1\infty}(V) = \frac{1}{1 + \exp[(-40 - V)/0.5]}$$

$$S_{2\infty}(V) = \frac{1}{1 + \exp[(-42 - V)/0.4]}$$

$$t_n(V) = \frac{8.3}{1 + \exp[(V + 9)/10]}$$

Na tabela 2 encontram-se descritos os parâmetros para o modelo das células β -pancreáticas (BERTRAM et al. 2000; WATTS et al. 2011).

Tabela 2. Parâmetros fixados para o modelo das células β -pancreáticas (BERTRAM et al. 2000; WATTS et al. 2011).

Parâmetros	Valores	Unidades	Variáveis
C_m	4524	fF	Capacitância da membrana
G_{Ca}	280	pS	Condutância da corrente rápida de Ca^{2+}
G_K	1300	pS	Condutância da corrente rápida de K^+
G_L	25	pS	Condutância da corrente de vazamento
GS_1	3–20	pS	Condutância lenta de K^+
GS_2	32	pS	Condutância de K^+ muito lenta
V_{Ca}	100	mV	Potencial de reversão do Ca^{2+}
V_k	80	mV	Potencial de reversão do K^+
V_L	-40	mV	Potencial de reversão do leak
T_{S1}	1	s	Constante de tempo 1
T_{S2}	2	min	Constante de tempo 2

No corpo humano, o nível de glicose no sangue é regulado por controle hormonal, o qual traz o nível de glicose ao normal caso ocorra uma perturbação. Este sistema é conhecido como homeostase da glicose, onde processos celulares de glicose em todo o corpo estão ligados entre si por hormônios como a insulina (CHEW et al. 2009).

A estimulação da secreção de insulina pela glicose está ligada à atividade elétrica das células pancreáticas. Esta atividade consiste em oscilações no potencial de membrana entre a fase despolarizada, repolarizada e intervalo eletricamente silencioso (DUFOUR et al., 2010). Sendo a glicose o principal estimulador endógeno de insulina, a estimulação da secreção de insulina ocorrerá após a glicose ser absorvida através de transportadores (GLUT2) específicos e em seguida metabolizada pela Via Glicolítica, Ciclo de Krebs e Fosforilação Oxidativa (KEIZER, 1989; BERTRAM et al., 2007; HIRIART, 2008; CHEW et al. 2009; PEDERSEN, 2011).

Os canais iônicos desempenham um papel importante na regulação da glicose nas ilhotas de Langerhans. A absorção da glicose pela célula leva a um aumento no ATP, resultando no fechamento do canal de potássio dependente de ATP (K_{ATP}); este canal de potássio quando aberto mantém a polarização celular. Após o fechamento dos canais K_{ATP} , a célula despolariza e permite a abertura do canal de cálcio dependente de voltagem (Ca_V) que

promovem o aumento dos íons Ca^{2+} livre no citossol para acionar a secreção de insulina (HERRINGTON, 2007; BERTRAM et al., 2007).

Quando a concentração de glicose aumenta, o metabolismo das células β -pancreáticas acelera, levando a alterações na concentração citosólica de nucleotídeos de adenina (em particular o aumento do ATP e diminuição do ADP_{Mg}) e induzindo o fechamento dos canais K_{ATP} . A diminuição do fluxo de K^+ do meio intracelular para o exterior celular, resultante do fechamento dos canais K_{ATP} é o fator que dispara a despolarização da membrana; essa despolarização induz a abertura dos canais Ca_v e influxo de cálcio para o interior da célula. Este aumento do Ca^{2+} ativa a exocitose de insulina contida em grânulos (figura 5); portanto, o cálcio é um sinal de disparo essencial para o metabolismo da insulina (PEDERSEN, 2007; HENQUIN 2009; SHERMAN, 2010; FRIDLAND, 2010; CHA, 2011; RORSMAN, 2012; HENQUIN, 2012).

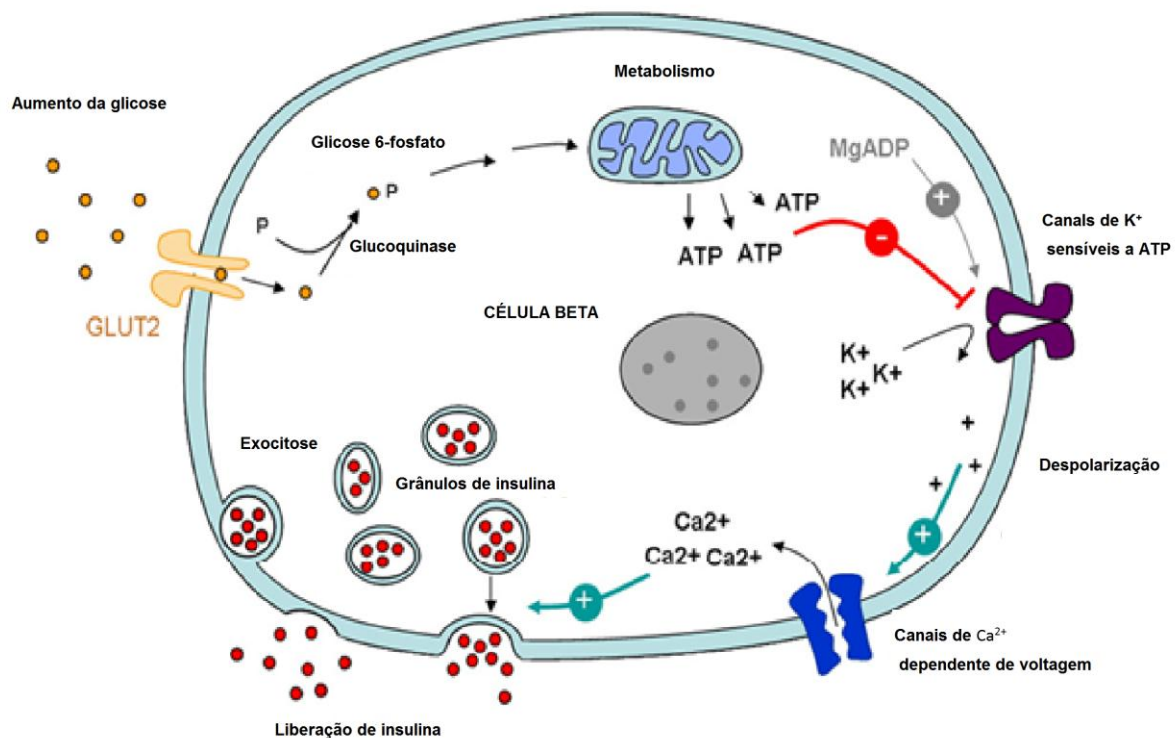


Figura 5. Modelo esquemático da atividade elétrica das células β -pancreáticas para a liberação da insulina e ativação e inativação dos canais de potássio dependentes de ATP e do de cálcio dependente de voltagem (SAINT-MARTIN et al., 2011).

2.8. Canais iônicos

Canais iônicos são estruturas moleculares complexas com funções celulares que regulam o fluxo de íons através de uma célula, e assim desempenham papel no mecanismo de sinalização celular (PANDEY, 2007; MALASICS et al. 2009; MAGNUS et al. 2011). O comportamento desses canais iônicos, que catalisam o fluxo de íons através da bicamada lipídica das membranas, continua a fascinar os cientistas desde sua descoberta devido a sua relação com numerosos fenômenos celulares, em particular o potencial de ação neuronal. Estes canais apresentam três propriedades essenciais: a capacidade de catalisar as taxas de transporte, fazer a seleção entre íons estreitamente relacionados e serem regulados por estímulos externos (WOOLLEY, 2003).

Os canais iônicos formam um diverso grupo de proteínas encontradas na membrana plasmática e compartimentos internos, como mitocôndrias, retículo endoplasmático e núcleo; tendo função em processos fisiológicos, patológicos e toxicológicos em diversos tipos celulares (RESTREPO-ANGULO et al., 2010). Os canais iônicos também podem ser reproduzidos artificialmente, introduzindo complexos protéicos macromoleculares em bicamadas lipídicas (LUNDGREN et al., 2011).

Os canais são os principais elementos dinâmicos na manutenção da excitabilidade da membrana, gerando diversos sinais celulares. Existem milhares de canais iônicos nas células para manter um potencial de membrana em aproximadamente -60 mV \pm 80 mV, ou gerar potenciais de ação cerca de 80 - 100 mV em amplitude (ANDERSSON, 2010).

Os canais iônicos geralmente apresentam os estados cinéticos: aberto e fechado (CELESIA, 2001). Estes canais transitam entre os seus diferentes estados devido a flutuações térmicas, campos elétricos e/ou ligantes (VARANDA et al., 2000). A abertura do canal iônico ocorre quando um regulador atua numa estrutura (sensor), que pode ser um conjunto de cargas, sítio de ligação ou sítio fotossensível. As alterações nestes sensores induzem uma estrutura chamada “*gate*” ou comporta que ao se deslocar causa mudanças conformacionais na estrutura da proteína do canal, permitindo a passagem dos íons (COSTA, 1997). A abertura do poro do canal pode ser considerada um processo de vários passos: 1. percepção do sensor; 2. transmissão da alteração conformacional para a região do poro; 3. abertura do poro (HERING et al., 2008).

Vários modelos têm sido propostos para descrever a cinética de canais iônicos, dentre eles: o clássico Modelo de Markov assume que uma transição futura é independente do tempo que o canal iônico está hospedado em um estado anterior, isto é, postula que a probabilidade de transição entre os estados por unidade de tempo (constantes cinéticas) depende apenas do estado atual do canal e não dos estados anteriores, sendo um processo aleatório e probabilístico. Para o Modelo Fractal a taxa de transição entre os estados dos canais iônicos dependem da resolução temporal e a corrente através de um canal é auto-similar em diferentes escalas de tempo. O Modelo Caótico descreve que as transições entre os estados cinéticos aparecem de forças determinísticas em vez das flutuações de probabilidade do modelo Markoviano. O Modelo Caótico é baseado na interação de um mapa linear por partes, descrevendo que as funções determinísticas dependem de um pequeno número de variáveis independentes que simulam o comportamento aleatório dos canais iônicos (VARANDA et al., 2000; BANDEIRA et al., 2008).

Os canais iônicos são geralmente regulados por agentes químicos (ex.: canal colinérgico), voltagem (ex.: canais de Na^+ , K^+ e Ca^{2+}) ou ondas eletromagnéticas (ex.: canais de células fotorreceptoras), mas também podem ser formados por poros sem regulação por agentes externos (ex.: canais dos antibióticos nistatina e anfotericina) (COSTA, 1997). Além da sua clássica função de regular a excitabilidade elétrica da célula, os canais iônicos podem participar da sinalização intracelular, servir como moléculas de adesão celular ou componente do citoesqueleto e alterar a expressão de genes específicos (KACZMAREK, 2006). Os canais iônicos podem participar da excitabilidade e contratilidade celular, secreção hormonal, imunidade inata, apoptose, proliferação e migração celular (KUNZELMANN, 2005; BURG et al., 2006; GHATTA et al., 2006).

Os principais canais iônicos encontrados nas células dos mamíferos são os canais de sódio (Na^+), cloreto (Cl^-), potássio (K^+) e cálcio (Ca^{2+}). Geralmente se utiliza para designar a nomenclatura de um canal uma combinação do símbolo do principal íon permeável com o principal modulador do canal (URBANO et al., 2008). No pâncreas, os canais iônicos são reguladores chave da homeostase da glicose. Células sensíveis nas ilhotas pancreáticas respondem a alterações nos níveis de glicose no sangue com alterações correspondentes no fluxo transmembranar de íons que, por sua vez, regula a secreção de hormônios metabólicos, inclusive a insulina (DENTON, 2012). Como a atividade elétrica das células β -pancreáticas relacionadas com a secreção de insulina envolvem as correntes de potássio e cálcio, será realizado detalhadamente a seguir.

2.9 Canais de potássio

Correntes de potássio através das membranas celulares são essenciais para a propagação de sinais elétricos em organismos multicelulares, inclusive na fase de recuperação dos potenciais de ação. A condução do íon ocorre através do poro dos canais altamente seletivos para K^+ , que é ligado e desligado em resposta a diferentes sinais de regulação (CLARKE et al. 2010). Existem algumas famílias de canais de potássio: os canais de potássio voltagem dependentes, canais retificadores de potássio, canais de potássio ativado por cálcio e canais de potássio ativados por ATP (MCCOY, 2012).

Canais de potássio são cada vez mais apontados como alvos moleculares em diversos estados patofisiológicos, além de serem investigados como possíveis alvos de drogas. Os canais de K^+ exercem um importante papel em vários processos fisiológicos incluindo a sinalização neuronal, vascular e muscular, estimulação cardíaca, função auditiva, secreção hormonal, função imunológica e proliferação celular. Doenças também vêm sendo relacionadas à mutações nos canais de K^+ (RAJA, 2011).

2.9.1 Canais de potássio voltagem-dependentes (K_v):

Canais de potássio voltagem-dependentes (K_v) são proteínas que respondem a alterações no potencial transmembrana, alterando a sua conformação para permitir a passagem de íons K^+ através da membrana celular. Estes canais são proteínas tetraméricas, em que cada subunidade compreende seis segmentos helicoidais transmembrana (S1-S6) representados na figura 5 (KHALILI-ARAGHI et al. 2010).

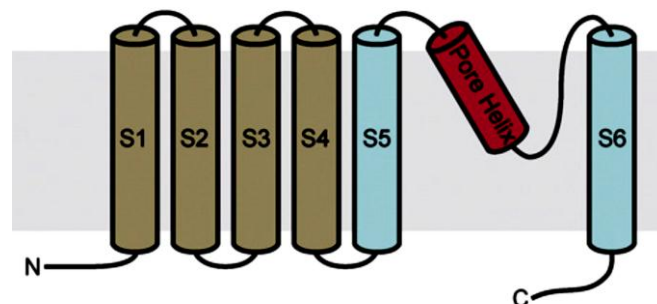


Figura 6. Diagrama da topologia do canal de K^+ . O poro transmembrana está representado pelas hélices azuis. As hélices transmembrana adicionais são as marrons e a hélice que forma o “loop” está representada em vermelho. As subunidades K_V contêm seis hélices transmembranas; as hélices S5 e S6 formam o poro, enquanto as hélices S3 e S4 apresentam função de sensor de voltagem (MCCOY, 2012).

Os Canais K_V estão amplamente difundidos entre os organismos biológicos, desde organismos mais simples como as bactérias até os seres humanos, apresentando múltiplas funções fisiológicas (MCCOY, 2012). Os K_V são de fundamental importância para as células excitáveis, tais como os neurônios e células musculares (ANDER, 2008).

Dentre os canais de potássio voltagem-dependentes, os $K_V1.5$ são expressos numa grande variedade de tecidos, incluindo nas células β do pâncreas secretoras de insulina, cérebro, macrófagos, coração, músculo esquelético, bem como tecidos vascular, intestinal e vias aéreas (MUNOZ et al. 2012). A maioria destes canais exibe inativação lenta que envolve alterações conformacionais no filtro de seletividade (MCCOY, 2012).

O papel fisiológico dos canais K_V em células β -pancreáticas é restaurar a membrana celular para um estado hiperpolarizado depois de um potencial de ação, ou seja, estabilizar eletricamente a membrana da célula. Desta maneira, os canais K_V influenciam na frequência e duração do potencial de ação nas células β -pancreáticas (HU, 2001; LEUNG, 2012).

2.9.2 Canais retificador da corrente de potássio (K_{IR})

Os canais K_{IR} também podem ser subdivididos em subunidades. Este canal tem apenas duas hélices transmembranares flanqueando a região do poro, para os segmentos S5 e S6 em canais K_V (figura 6). Os canais K_{IR} também possuem um domínio citoplasmático que auxilia na regulação da ativação do canal (RAJA, 2011; MCCOY, 2012).

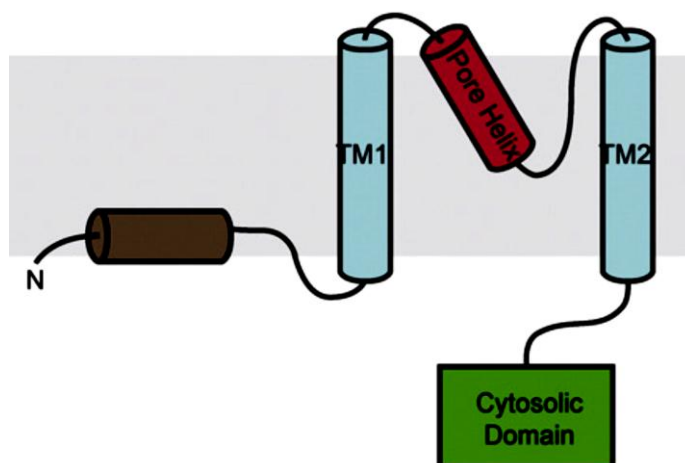


Figura 7. Os canais K_{IR} contêm duas hélices transmembranares formando a região do poro (azul), assim como uma hélice N-terminal (marrom) e um domínio citoplasmático (verde) que permite o canal ser regulado por diversas substâncias (MCCOY, 2012).

Canais retificadores de K^+ desempenham um papel crucial na regulação da secreção de insulina em resposta a glicose, no entanto, a sua inibição farmacológica e ablação genética podem aumentar a secreção de insulina (YOSHIDA et al. 2010).

Canais (K_{IR}) são caracterizados por serem retificadores de corrente, ou seja, apresentam uma relação corrente versus voltagem não linear. Estes canais auxiliam na modulação da excitabilidade celular e estão envolvidos na repolarização de potenciais de ação, estabelecendo o potencial de repouso do neurônio e contribuindo para a homeostase do K^+ . Mutações nestes canais podem causar doenças como a síndrome de Bartter, caracterizada pela perda de função dos canais K_{IR} 1.1 que levam à insuficiência renal; síndrome de Andersen, onde ocorre a perda de função dos canais K_{IR} 2.1, levando a paralisia periódica e arritmias cardíacas (LUJÁN, 2010).

Correntes de K^+ para fora da célula através de canais K_{IR} desempenham um papel crucial no controle da excitabilidade da membrana e da duração do potencial de ação em muitos tipos de células (LIU, 2011).

Esses canais são regulados por uma variedade de moduladores, incluindo prótons, proteínas-G, ATP e K^+ extracelular. Canais K_{IR} são predominantemente responsáveis pela manutenção do potencial de repouso e também apresenta importância em funções celulares de tecidos em todo o organismo, incluindo neurônios, músculo esquelético, músculo cardíaco e células β -pancreáticas (SØE, 2009).

2.9.2 Canais de potássio ativados por Cálcio (K_{Ca})

Os canais K_{Ca} estão presentes em células excitáveis e não-excitáveis, e são ativados através das concentrações de Ca^{2+} intracelular, resultando na hiperpolarização do potencial de membrana e mudanças na excitabilidade celular. Funcionalmente, os canais de K_{Ca} estão envolvidos na regulação das propriedades neuronais, o fluxo de sangue e proliferação celular. Do ponto de vista estrutural, as subunidades dos canais de K_{Ca} formam estruturas homo ou heterotetraméricas. Similarmente aos canais K_V , cada subunidade α de canais K_{Ca} consiste em seis domínios transmembranares incluindo domínios com terminais amina e carboxila do lado intracelular da membrana e um domínio de poro formado pelos dois últimos domínios transmembranares (S5 e S6). Oito cDNAs que codificam diferentes canais K_{Ca} foram clonados. Com base na homologia da sua sequência e propriedades características eletrofisiológicas e farmacológicas, os canais de K_{Ca} são divididos em cinco subfamílias: BK/ K_{Ca1} /KCNM; SK/ K_{Ca2} /KCNN; IK/ K_{Ca3} /KCNN; K_{Ca4} /KCNT; e K_{Ca5} /KCNU (LUJÁN, 2010).

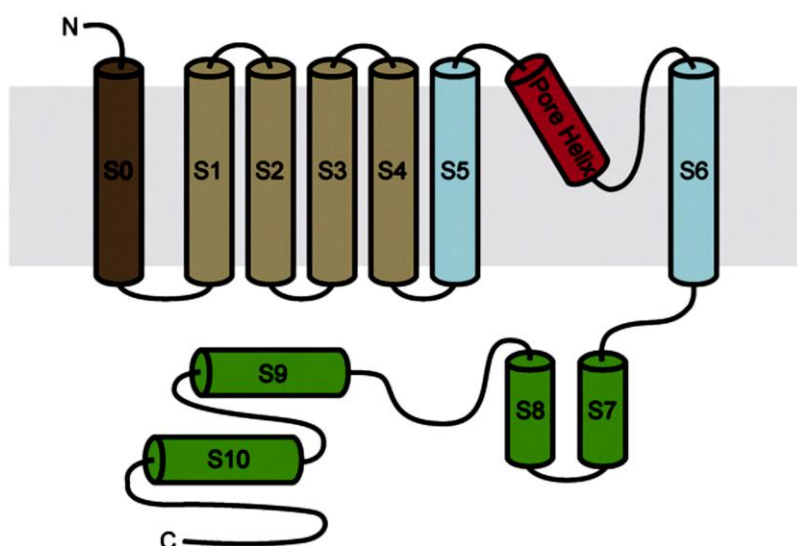


Figura 8. As subunidades transmembranares do canal K_{Ca} são topologicamente semelhante aos canais K_V . Os canais $K_{Ca1.1}$ possuem uma hélice transmembrana adicional (S0), totalizando sete hélices. Os canais K_{Ca2} e $K_{Ca3.1}$ têm seis hélices transmembranares como os canais K_V , mas contêm um domínio citoplasmático (MCCOY, 2012).

2.9.3 Canais de potássio dependente do trifosfato de adenosina (K_{ATP})

O K_{ATP} também está envolvido no movimento de potássio através da membrana celular. Este canal é encontrado em vários órgãos e tecidos, tais como o pâncreas, cérebro, coração, músculo esquelético e liso (KIM, 2010). Várias funções são realizadas por estes canais dependendo do tecido onde estão expressos, tais como: regulação da excitabilidade neuronal, modulação do tônus da musculatura lisa, promove a degeneração neuronal, regula a adaptação à isquemia cardíaca e estresse, bem como um papel importante no controle do apetite. Nas células β do pâncreas, os canais K_{ATP} desempenham uma função crucial no metabolismo da glicose e secreção de insulina. Em baixas concentrações de glicose os canais K_{ATP} são abertos e o potencial de repouso de células β - pancreáticas mantém-se próximo a -70 mV (SORIANO et al. 2011).

O canal K_{ATP} consiste em subunidades Kir6 formando os poros e receptores de sulfoniluréias (SUR) controlando a função do canal. O ATP inibe a ativação dos canais em Kir6.2, o Mg-ATP e difosfato de adenosina (ADP) ativam o canal através da subunidade SUR. Portanto, a concentração da relação do ATP / ADP intracelular determina a ativação do canal K_{ATP} . A codificação do gene humano Kir6.2 é mapeado para o cromossomo 11p15.1 (ZÜNKLER, 2006; AZIZ,2010; KIM, 2010; SORIANO et al. 2011; KEFALOYIANNI et al. 2012).

SUR é um tipo de proteína “ATP-binding cassette”. Os subtipos SUR1, SUR2A, e SUR2B são expressos nas células β -pancreáticas, músculo cardíaco, esquelético e liso. SUR1 está envolvido com a ligação de ATP nas células β do pâncreas, para bloquear os canais de K_{ATP} , que por sua vez induz a despolarização, assim, SUR1 desempenha um papel importante na secreção de insulina, controlando o potencial de membrana (KIM, 2010; KEFALOYIANNI et al.2012).

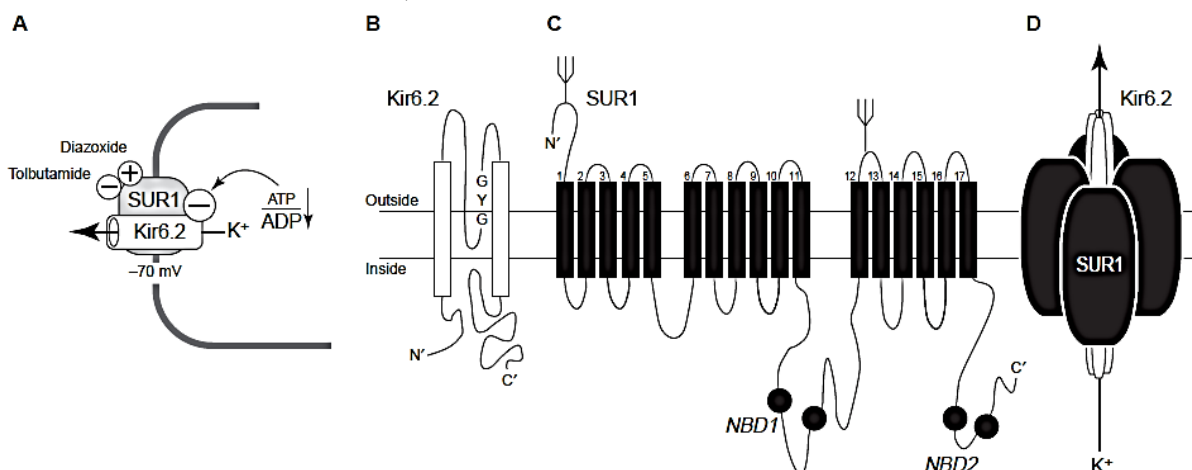


Figura 9. A arquitetura do canal de K_{ATP} das células β -pancreáticas é composta de subunidades Kir6 e SUR1. (A) As influências dos reguladores sobre os canais K_{ATP} em células β do pâncreas: (i) a diminuição de ATP irá sustentar eventos de canal aberto; (ii) ativação dos canais por diazóxido e inibição por tolbutamida. (B) A topologia do canal K^+ subunidade Kir6.2. (C) A topologia da SUR1 das células β - uma proteína ATP-binding cassette. (D) O canal de K_{ATP} é um complexo heteromultimérico composto de Kir6.2-SUR1 (DUNNE et al., 1999).

No potencial de repouso da membrana (-70 mV) o K_{ATP} se mantém predominantemente aberto. Entretanto, quando ocorre o aumento da concentração externa de glicose ou a elevação de ATP ou ATP/ADP citoplasmático, os canais de K_{ATP} começam a se fechar e dentro de alguns minutos as células β -pancreáticas se despolarizam, resultando em potenciais de ação na membrana (50 a 40 mV) (YOSHIDA et al. 2010).

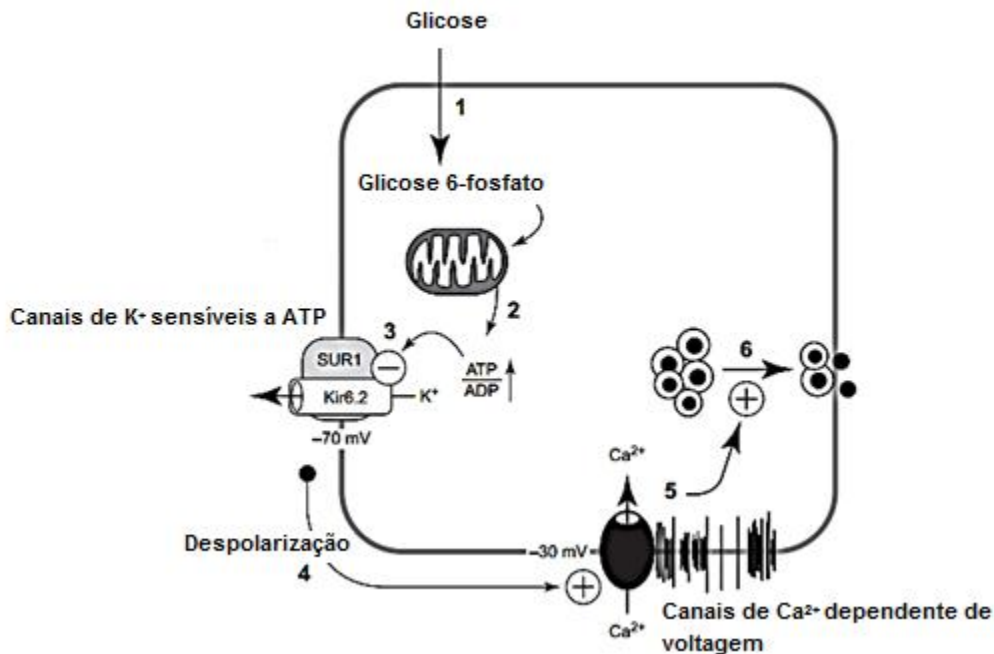


Figura 10. O controle da liberação de insulina a partir de células β -pancreáticas humanas. Nas células β normais em concentrações não estimulantes de glicose, o potencial de membrana se encontra em repouso (-70 mV), que é determinada pela abertura dos canais K_{ATP} . Quando a concentração de glicose é elevada, o metabolismo da glicose é alterado na célula β . Existe uma limitação de velocidade neste processo que é dependente da atividade da glicoquinase e formação da glicose-6-fosfato (1). Eventos metabólicos subsequentes levam a um aumento do ATP citosólico: o ATP (2) é que fecha os canais de K_{ATP} (3), levando a despolarização da membrana (4) e abertura dos canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem (5).

Em seguida, inicia-se a liberação de insulina através de exocitose de grânulos secretórios (6) (DUNNE et al. 1999).

Canais K_{ATP} também podem ser inibidos farmacologicamente. Várias classes de drogas insulino-trópicas utilizadas no tratamento de DMNDI atuam via ligação no canal K_{ATP} , causando fechamento de canal de potássio, influxo e secreção de insulina. Exemplos destas drogas são as sulfonilureias, tais como tolbutamida e glibenclamida (BALL, 2005).

Os polimorfismos citoplasmáticos no canal K_{ATP} estão ligados a alterações na secreção de insulina, indicando que os genes que codificam este canal iônico podem ser marcadores da susceptibilidade para o DMNDI. Mutações em ambas as subunidades Kir6.2 e SUR1 resulta na perda de atividade do canal K_{ATP} nas células β -pancreáticas, conduzindo a membrana à despolarização (ZÜNKLER, 2006).

2.10 Canais de Cálcio Dependentes de Voltagem (Ca_v)

O Ca^{2+} é um mensageiro intracelular capaz de exercer diversas funções em vários tipos de células, excitáveis e não excitáveis. Atua na contração muscular, secreção de neurotransmissor, na fertilização, na proliferação, no desenvolvimento, na aprendizagem e memória e morte celular. Esta versatilidade só pode ser alcançada graças a um controle muito preciso da sua concentração ao nível subcelular. De fato, a ativação destes processos geralmente ocorre como consequência de aumentos transitórios na $[Ca^{2+}]$ citosólico em determinados locais subcelulares, que são variáveis dependendo do processo (IFTINCA, 2008; LIN, 2011; ÁLVAREZ, 2012).

O cálcio entra nas células principalmente através de canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem (FRIDLYAND, 2003). Os canais de cálcio também contribuem para a repolarização, com o objetivo de finalizar o potencial de ação através de inativação do canal, sendo que os disparos de potenciais de ação surgem através da ativação de vários tipos de canais de cálcio dependente da voltagem (CHA, 2011).

As subunidades de canais de cálcio dependentes da voltagem (Ca_v) foram inicialmente identificadas em 1987 como uma subunidade estequiométrica do receptor de 1,4-dihidropiridina isolado a partir de músculo esquelético (HIDALGO, 2007). Os canais de cálcio são complexos de proteínas macromoleculares composto de uma subunidade α_1 primário e

três subunidades auxiliares (α_2 , δ , β , γ) que são codificadas por genes múltiplos (HURLEY,2012).

Canais C_{AV} , são divididos em três subtipos principais C_{AV1} (L-tipo), C_{AV2} (P-, N- e R-tipo) e C_{AV3} (T-tipo). Estes tipos que foram distinguidos originalmente (antiga nomenclatura está entre parênteses) por meios de critérios farmacológicos e eletrofisiológicos. Canais dependentes de voltagem respondem a despolarização da membrana através da sua abertura e modificação da condutância ao íon. Canais C_{av} regulam a atividade elétrica neuronal, modulam o gating de outros canais iônicos e outros numerosos controles de processos celulares, tais como liberação de neurotransmissores, a sobrevivência neuronal e ativação da quinase (HURLEY, 2012).

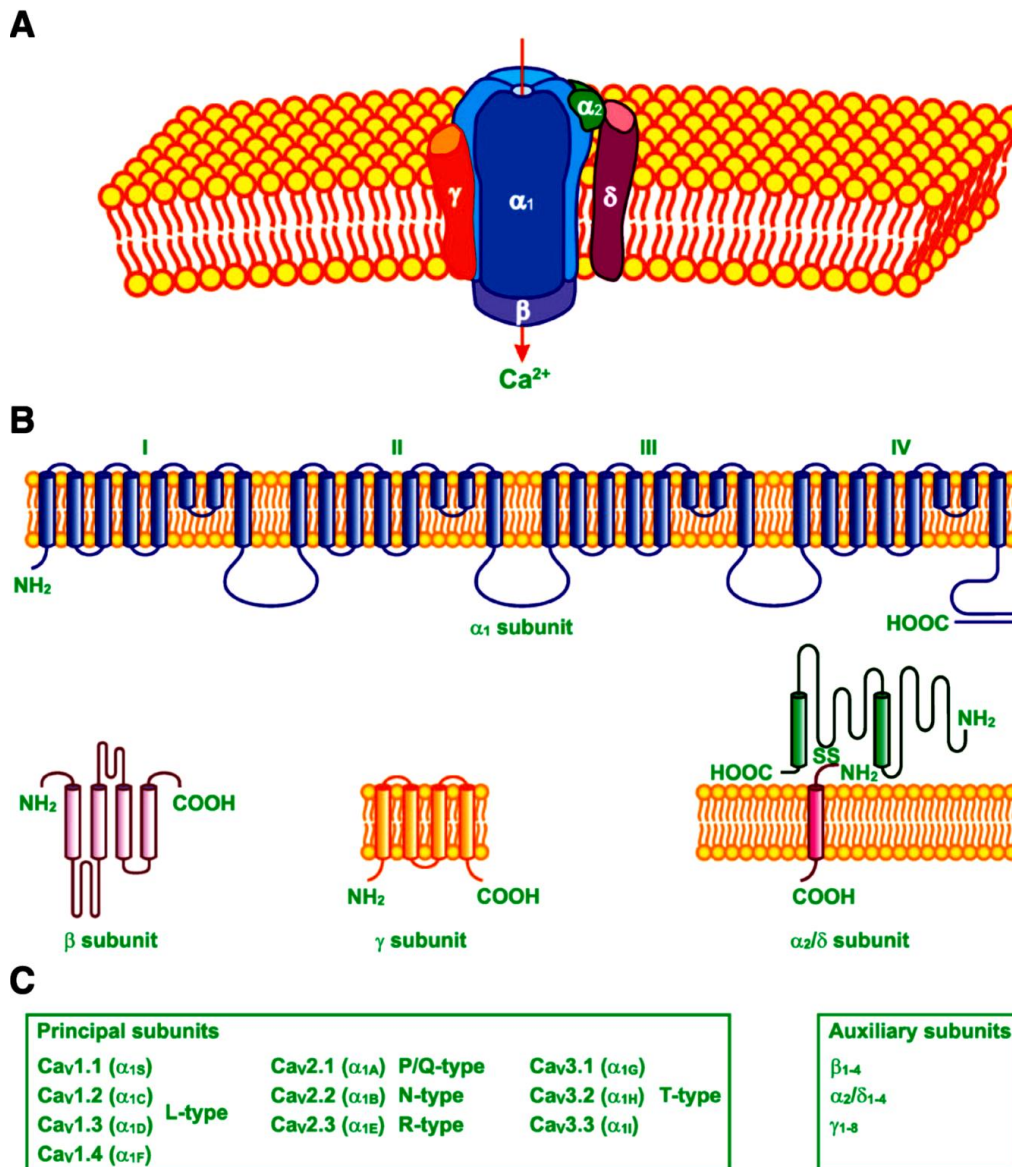


Figura 11. A: organização molecular do canal de cálcio voltagem dependente (C_{AV}), subunidades do canal na membrana plasmática. B: topologia das subunidades do canal. C: nomenclatura das subunidades do canal. YANG (2005).

Em células β -pancreáticas, a despolarização da membrana causada pelo metabolismo de glicose, induz a rápidas alterações conformacionais nos canais de cálcio voltagem dependente, promovendo a permeabilidade dos poros que, por sua vez, permite o cálcio extracelular entrar no citoplasma. A entrada do Ca^{2+} através destes canais induz diretamente ao tráfego de grânulos e secreção de insulina. A desordem dos canais dependentes de voltagem das células β -pancreáticas tem sido observada em pacientes diabéticos e também em modelos animais diabéticos. A desregulação desses canais nas células β -pancreáticas pode levar a disfunção e morte celular tanto na diabetes tipo 1 e tipo 2. As atividades e distribuição de canais de cálcio dependentes de voltagem dentro da célula β são reguladas por vários complexos moleculares, tais como Ca^{2+} / calmodulina, tais como receptor de detecção de cálcio, cinases de proteína, e fosfatos de inositol. A regulação da atividade dos canais é crucial para fornecer uma ótima concentração de Ca^{2+} nas células β -pancreáticas nos processos como exocitose de insulina e suas disfunções podem resultar em diabetes tipo 1 e tipo 2 (PARKASH, 2011; CHA, 2011).

As propriedades biofísicas, distribuições subcelulares, e as funções dos canais de C_{AV} têm sido extensivamente examinadas através da combinação das técnicas de eletrofisiologia, biologia molecular e microscopia. Em resposta a despolarização da membrana, a conformação de canais C_{AV} muda de um estado fechado para um estado aberto. O influxo Ca^{2+} através canais C_{AV} serve como segundo mensageiro para sinalização elétrica e química. Ele controla uma gama diversificada de eventos intracelulares, incluindo a exocitose, endocitose, contração muscular, a transmissão sináptica e metabolismo. Uma grande importância para esses canais é desencadear a exocitose de insulina (RORSMAN et al. 2011). Devido a importância desses canais na atividade elétrica e na secreção de insulina nas células β -pancreáticas, propomos nesta pesquisa modelar a atividade elétrica das células β -pancreáticas e o comportamento das partículas de *gatings* que controlam os canais de potássio interagindo com campo elétrico de 60Hz e de amplitude variável.

3. Objetivos

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar se uma voltagem elétrica senoidal de baixa frequência altera a atividade elétrica da membrana das β -pancreáticas.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Verificar a influência de uma voltagem senoidal de baixa frequência (60Hz) e com amplitudes variáveis na duração dos bursts da atividade elétrica das células β -pancreáticas;
- Avaliar a influência de uma voltagem senoidal de 60Hz e com amplitudes variáveis na duração do período inter-burst da atividade elétrica das células β -pancreáticas;
- Analisar o comportamento médio do número de spikes por burst em resposta a uma voltagem senoidal de 60Hz e amplitudes variáveis aplicada nas células β -pancreáticas;
- Analisar o comportamento médio do tamanho dos spikes em resposta a uma voltagem senoidal de 60Hz e amplitudes variáveis aplicada nas células β -pancreáticas.

4.Referências

ÁLVAREZ, J. Calcium dynamics in the secretory granules of neuroendocrine cells. **Cell Calcium**. v. 51, p. 331–337, 2012. doi:10.1016/j.ceca.2011.12.002

ANDER, M.; LUZHKOV, V.B.; QVIST, J.A. Ligand Binding to the Voltage-Gated Kv1.5 Potassium Channel in the Open State—Docking and Computer Simulations of a Homology Model. **Biophysical Journal Volume**. v. 94, p. 820–831, 2008. doi:10.1529/biophysj.107.112045

ANDERSSON, T. Exploring voltage-dependent ion channels in silico by hysteretic conductance. **Mathematical Biosciences**. v. 226, p.16–27, 2010 doi:10.1016/j.mbs.2010.03.004

ASLANIDI, O et al. Excitation Wave Propagation as a Possible Mechanism for Signal Transmission in Pancreatic Islets of Langerhans. **Biophysical Journal**. v. 80, p. 1195–1209, 2001.

AYDINA,B; AKARB,A. Effects of a 900-MHz Electromagnetic Field on Oxidative Stress Parameters in Rat Lymphoid Organs, Polymorphonuclear Leukocytes and Plasma. **Archives of Medical Research**. v. 42, p.261-267, 2011.doi: 10.1016/j.arcmed.2011.06.001

AZIZ, Q.; THOMAS, A.; KHAMBRA, T.; TINKER, A. Phenformin has a direct inhibitory effect on the ATP-sensitive potassium channel. **European Journal of Pharmacology**. v. 634, p.26–32, 2010. doi:10.1016/j.ejphar.2010.02.023

BURG, E.D.; REMILLARD, C.V.; YUAN, J.X. K^+ channels in apoptosis. **J Membr Biol**. v. 209, p. 3-20, 2006. DOI: 10.1007/s00232-005-0838-4

BALL, A.J.; FLATT, P.R.; MCCLENAGHAN, N.H. Alterations of insulin secretion following long-term manipulation of ATP-sensitive potassium channels by diazoxide and nateglinide. **Biochemical Pharmacology**. v.69, p.59–63, 2005. doi:10.1016/j.bcp.2004.09.009

BANDEIRA, H.T.; BARBOSA, C.T.F.; OLIVEIRA, R.A.C.; AGUIAR, J.F.; NOGUEIRA, R.A. Chaotic model and memory in single calcium-activated potassium channel kinetics. **Chaos**. v. 18, 033136, 2008. DOI: 10.1063/1.2944980

BANSAL, P; WANG, Q. Insulin as a physiological modulator of glucagon secretion. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. v. 295, p. E751–E761, 2008.

BARG, S et al. Fast Exocytosis with Few Ca^{2+} Channels in Insulin-Secreting Mouse Pancreatic β - Cells. **Biophysical Journal** .v. 81, p.3308–3323, 2001.

BARATTO, G. Solução de Equações Diferenciais Ordinárias Usando Métodos Numéricos. Departamento de Eletrônica e Computação, UFSM. V.0.1,2007. Disponível em: <http://www-usr.inf.ufsm.br/~gbaratto/graduacao/ELC1021/Atual/textos/EDO/solucao_EDO_pelos_metodos_Euler_Runge-Kutta.pdf>. Acesso em: 15 maio 2012

BAHIA, L. R. et al. The Costs of Type 2 Diabetes Mellitus Outpatient Care in the Brazilian. **Value in Health**. v. 14, p. S137-S140, 2011. doi:10.1016/j.jval.2011.05.00

BARONE, M.T.U; BARRETO, L. M. Diabetes and sleep: A complex cause-and-effect relationship. **Diabetes Research and Clinical Practice**. v. 91, p. 129-137, 2011. doi:10.1016/j.diabres.2010.07.011

BAYNES, J. **Bioquímica médica**, 2.ed., 2007

BLANK M, SOO L. Optimal frequencies for magnetic acceleration of cytochrome oxidase and Na, K-ATPase reactions. **Bioelectrochemistry**. V.53,p.171–4,2001.

BERTRAM, R; SHERMAN, A; SATIN, L. Electrical Bursting, Calcium Oscillations, and Synchronization of Pancreatic Islets. **Adv Exp Med Biol**. v. 654, p. 261–279, 2010. doi: 10.1007/978-90-481-3271-3_12

BERNABO,N; TETTAMANTIE; RUSSO,V;MARTELLI,A; TURRIANI,M; MATTOLI,M;BARBONI,B. Extremely low frequency electromagnetic field exposure affects fertilization outcome in swine animal model. **Theriogenology**. v. 73, p.1293–1305, 2010. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.12.01

BERTRAM, R; PREVITE, J; SHERMAN, A; KINARD, T.A; SATIN, L.S. The Phantom Burster Model for Pancreatic β -Cells. **Biophysical Journal** .v. 79, p.2880–2892, 2000.

BERTRAM, R; SATIN, L; ZHANG, M; SMOLEN, P; SHERMAN, A. Calcium and Glycolysis Mediate Multiple Bursting Modes in Pancreatic Islets. **Biophysical Journal**. v. 87, p. 3074–3087, 2004. doi: 10.1529/biophysj.104.049262

BERTRAM,R; SATIN,L.S;PEDERSEN,M.G; LUCIANI, D. S; SHERMAN,A. Interaction of Glycolysis and Mitochondrial Respiration in Metabolic Oscillations of Pancreatic Islets. **Biophysical Journal**. v. 92, p.1544–1555, 2007. doi: 10.1529/biophysj.106.097154

BEST, L. Glucose-induced electrical activity in rat pancreatic β -cells: dependence on intracellular chloride concentration. **J Physiol**. v. 568.1, p.137–144, 2005. doi: 10.1113/jphysiol.2005.093740

BETTA, G; CAPRIGLIONE, D; PASQUINO, N. Experimental investigation on workers' exposure to electromagnetic fields in proximity of magnetic resonance imaging systems. **Measurement**. v. 45, p.199–206, 2012. doi:10.1016/j.measurement.2011.03.001

BOYCE, W.E. DIPRIMA, R.C. **Equações diferenciais elementares e problemas de valores de contorno**. 9 edição. Rio de Janeiro: LCT, 2010. Pg.1-237

CALVENTE, M.F; FERNANDEZ, J; VILLALBA , N; OLEA, M.I.N. Exposure to electromagnetic fields (non-ionizing radiation) and its relationship with childhood leukemia: A systematic review. **Science of the Total Environment**. v. 408, p. 3062–3069, 2010. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.03.03

CELESIA, G.G. Disorders of membrane channels or channelopathies. **Clin Neurophysiol**. v. 112, p. 2-18, 2001.

CHA, C.Y; POWELL, T; NOMA, A. Analyzing electrical activities of pancreatic b cells using mathematical models. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**. v. 107, p.265-273, 2011. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2011.08.00

CHAKRABORTYA, C; ROYB, S. S; HSUC, M.J; AGORAMOORTHYD, G. Can computational biology improve the phylogenetic analysis of insulin? **Computer Methods and Programs in Biomedicine**. v. x x x, p. xxx–xxx, 2012. doi:10.1016/j.cmpb.2011.12.001

CHAVARETTE, F.R; BALTHAZAR, J.M; RAFIKOV, M; HERMINI, H.A. On non-linear dynamics and an optimal control synthesis of the action potential of membranes (ideal and non-ideal cases) of the Hodgkin–Huxley (HH) mathematical model. **Chaos, Solitons and Fractals**.v. 39, p.1651–1666, 2009. doi:10.1016/j.chaos.2007.06.016

CHE,Y. Q; WANG,J; ZHOU,S.S; DENG,B. Synchronization control of Hodgkin–Huxley neurons exposed to ELF electric field. **Chaos, Solitons and Fractals**. v.40, p.1588–1598, 2009. doi:10.1016/j.chaos.2007.09.046

CHE, Y; WANG, J; DENG, B; WEI, X; HAN, C. Bifurcations in the Hodgkin–Huxley model exposed to DC electric fields. **Neurocomputing**. v. 81, p.41–48, 2012. doi:10.1016/j.neucom.2011.11.019

CHEW,Y.H.C; SHIA,Y.L; LEE,C.T; MAJID,F.A.A; CHUA,L.S; SARMIDI,M.R; AZIZ,R.A. Modeling of oscillatory bursting activity of pancreatic beta-cells under regulated glucose stimulation. **Molecular and Cellular Endocrinology**.v. 307, p.57–67, 2009. doi:10.1016/j.mce.2009.03.00

CIFRA, M; FIELDS, J.Z; FARHADI, A. Electromagnetic cellular interactions. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**. v. 105, p.223-246, 2011. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2010.07.00

CLARKE , O B.;CAPUTO, A.T.; HILL, A.P.; VANDENBERG, J.I.;SMITH, B.J.; GULBIS,J.M. Domain Reorientation and Rotation of an Intracellular Assembly Regulate Conduction in Kir Potassium Channels. **Cell**. v. 141, p.1018–1029, 2010.DOI 10.1016/j.cell.2010.05.003

COLLI, M. L.; MOORE, F.; GURZOV, E. N.; ORTIS, F.; EIZIRIK, D. L. MDA5 and PTPN2, two candidate genes for type 1 diabetes, modify pancreatic β -cell responses to the viral by-product double stranded RNA. **Human Molecular Genetics**, vol. 19, p. 135–146, 2010. doi: 10.1093/hmg/ddp474

COSTA, J.G. *Biofísica das membranas*. Recife: Editora Universitária UFPE. 173p, 1997.

COSTA, J. G.; MOURA, M. A.; CONSONI, L.; NOGUEIRA, R. A. Can electromagnetic radiations induce changes in the kinetics of voltage – dependent ion channels? **Cellular and Molecular Biology**, v.48, p. 577-583, 2001.

CROTTY, P; SANGREY, T. Optimization of battery strengths in the Hodgkin –Huxley model. **Neurocomputing**. v. 74, p.3843–3854, 2011. doi:10.1016/j.neucom.2011.07.021

CURL,R; PROCOPIO,J;FERNANDES, L.C. *Praticando fisiologia.* Barueri: Editora Manole.88p, 2005.

DAVÌ, G; VAZZANA, N; SESTILI, S. Variability in the response to antiplatelet treatment in diabetes mellitus. **Prostaglandins & other Lipid Mediators.** v. xxx, p. xxx– xxx, 2012. doi:10.1016/j.prostaglandins.2012.01.00

D’ALEO, A; MANCARELLA,R; GUERRA, S.D; BOGGI,U; FILIPPONI ,F; MARCHETTI,P; LUPI,R. Direct effects of rapid-acting insulin analogues on insulin signaling in human pancreatic islets *in vitro*. **Diabetes & Metabolism.** V. 37, p.324–329, 2011. doi: 10.1016/j.diabet.2010.12.002

DAWSA, L. C; AVISON, M. J; ROBERTSON, S. D; NISWENDER, K. D; GALLI, A; SAUNDERS, C. Insulin signaling and addiction. **Neuropharmacology.** v. 61, p 1123-1128, 2011. doi:10.1016/j.neuropharm.2011.02.02

DEAN, P M; MATTHEWS, K. Electrical activity in pancreatic islet cells: Effect of ions. **J. Physiol.** v. 210, p. 265-275, 1970.

DENTON, J.S.; JACOBSON, D.A. Channeling dysglycemia: ion-channel variations perturbing glucose homeostasis. **Trends in Endocrinology and Metabolism.** v.23,n.1,2012.doi:10.1016/j.tem.2011.09.004

DUFOUR S. B.; ABDERRAHMANIC,A.;NOELA,J.; BRAUA, F.; WAEBERC,G.; MAZELLAA,J.; COPPOLAA,T. Neurotensin is a regulator of insulin secretion in pancreatic beta-cells. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.** v.42, 1681–1688, 2010. doi:10.1016/j.biocel.2010.06.01

DUNNE, M.J.; COSGROVE, K.E.; SHEPHERD, R.M.; ÄMMÄLÄ, C. Potassium Channels, Sulphonylurea Receptors and Control of Insulin Release. **TEM.** v.10, n. 4, 1999.

EBERHARD, D; LAMMERT, E. The pancreatic β -cell in the islet and organ community. **Current Opinion in Genetics & Development.** v.19, p.469–475, 2009. DOI 10.1016/j.gde.2009.07.00

ERMENTROUT, B. *Simulating, Analyzing, and Animating Dynamical Systems: A Guide to XPPAUT for Researchers and Students.* SIAM, Philadelphia, 1987.

FRIDLAND, L.E.; TAMARINA, N.; PHILIPSON, L. H. Modeling of Ca^{2+} flux in pancreatic β -cells: role of the plasma membrane and intracellular stores. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** v. 285, p.E138–E154, 2003. doi:10.1152/ajpendo.00194.2002

FRIDLAND, L; TAMARINA, N; PHILIPSON, L. Bursting and calcium oscillations in pancreatic β -cells: specific pacemakers for specific mechanisms. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** v. 299, p.E517–E532, 2010. doi: 10.1152/ajpendo.00177.2010

FRÖJDÖ, S; VIDAL, H; PIROLA, L. Alterations of insulin signaling in type 2 diabetes: A review of the current evidence from humans. **Biochimica et Biophysica Acta.**v.1792, p.83–92, 2009. doi:10.1016/j.bbadis.2008.10.01

FRIDLAND, L. E; HARBECK, M. C; ROE, M. W; PHILIPSON, L. P. Regulation of cAMP dynamics by Ca^{2+} and G protein-coupled receptors in the pancreatic-cell: a computational approach. **Am J Physiol Cell Physiol**.v.293, p.C1924–C193, 2007. doi: 10.1152/ajpcell.00555.2006

FRIDLAND, L.E; TAMARINA, N; PHILIPSON, L.H. Bursting and calcium oscillations in pancreatic β -cells: specific pacemakers for specific mechanisms. **Am J Physiol Endocrinol Metab**.v. 299,p. E517–E532, 2010. doi:10.1152/ajpendo.00177.2010.

GASTALDELLI, A. Role of beta-cell dysfunction, ectopic fat accumulation and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Diabetes Research and Clinical Practice**. v.93, p. S 6 0–S 6 5, 2011.

GENUIS, S. J; T. LIPP, C.T. Electromagnetic hypersensitivity: Fact or fiction? **Science of the Total Environment**.v. 414, p.103–11, 2012. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.11.008

GHATTA, S.; NIMMAGADDA, D.; XU, X.; O'ROURKE, S.T. Large-conductance, calcium-activated potassium channels: Structural and functional implications. **Pharmacol Therap**. v. 110, p. 103-116, 2006.doi: 10.1016/j.pharmthera.2005.10.007

GIUDICE, E. D; FACCHINETTI, F; NOFRATE,V; BOCCACCIO,P; MINELLI,T; DAMD,M; LEONA,A; MOSCHINI,G. Fifty Hertz electromagnetic field exposure stimulates secretion of β -amyloid peptide in cultured human neuroglioma. **Neuroscience**. v. 418, p.9–12, 2007. doi:10.1016/j.neulet.2007.02.05

GRASSI,C; D'ASCENZO, M; TORSSELLO,A; MARTINOTTI,G; WOLF, F; CITTADINI,A; AZZENA,G.B. Effects of 50 Hz electromagnetic fields on voltage-gated Ca^{2+} channels and their role in modulation of neuroendocrine cell proliferation and death. **Cell Calcium**. v. 35, p.307–315, 2004. doi:10.1016/j.ceca.2003.09.00

HAYEK A; GUARDIAN. C; GUARDIAN, J. et al. Homogeneous magnetic fields influence pancreatic islet function in vitro. **Biochem Biophys Res Commun** . v. 122, p.191–196,1984.

HENQUIN, J.C. Regulation of insulin secretion: a matter of phase control and amplitude modulation. **Diabetologia**.v. 52, p.739–751, 2009.doi: 10.1007/s00125-009-1314-y

HENQUIN,J.C; MOURAD,N.I; NENQUIN,M. Disruption and stabilization of b-cell actin microfilaments differently influence insulin secretion triggered by intracellular Ca^{2+} mobilization or store-operated Ca^{2+} entry. **FEBS Letters**.v. 586, p.89–95, 2012. doi:10.1016/j.febslet.2011.11.030

HERRINGTON, J. Gating modifier peptides as probes of pancreatic beta - cell physiology. **Toxicon**. v.49, 231–238, 2007. doi:10.1016/j.toxicon.2006.09.01

HERING, S.; BEYL, S.; STARY, A.; KUDRNAC, M.; HOHAUS, A.; GUY, H.R.; TIMIN, E. Pore stability and gating in voltage-activated calcium channels. **Channels**. v. 2, p. 61-69, 2008.

HIDALGO, P.; NEELY, A. Multiplicity of protein interactions and functions of the voltage-gated calcium channel β -subunit. **Cell Calcium**. v. 42, p.389–396, 2007. doi:10.1016/j.ceca.2007.05.009

HIRIART, M.; BRYAN, L. A. Channel regulation of glucose sensing in the pancreatic cell. **Am J Physiol Endocrinol Metab**.v. 295, p.E1298–E1306, 2008. doi: 10.1152/ajpendo.90493.2008

HU, S.; WANG, S. Effect of insulinotropic agent nateglinide on Kv and Ca²⁺ channels in pancreatic β -cell. **European Journal of Pharmacology**. v. 427, p. 97–104, 2001. PII: S0014-2999Ž01.01252-3

HURLEY, M. J.; DEXTER, D. T. Voltage-gated calcium channels and Parkinson's disease. **Pharmacology & Therapeutics**. v. 133, p.324–333, 2012. doi:10.1016/j.pharmthera.2011.11.006

IFTINCA, M.C.; ZAMPONI, G.W. Regulation of neuronal T-type calcium Channels. **Trends in Pharmacological Sciences**. v.30, n.1, 2008. doi:10.1016/j.tips.2008.10.004

JABERI, F. M; KESHTGAR,S; TAVAKKOLIA; PISHVA,E; GERAMIZADEH,B; TANIDEH,N; JABERIF,M.M. A Moderate-Intensity Static Magnetic Field Enhances Repair of Cartilage Damage in Rabbits. **Archives of Medical Research**. v. 42, p.268-273, 2011. doi:10.1016/j.arcmed.2011.06.004

JING, D; SHEN,G; HUANG,J; XIE,K; CAI,J; XU ,Q; WU,X;LUO,E. Circadian rhythm affects the preventive role of pulsed electromagnetic fields on ovariectomy-induced osteoporosis in rats. **Bone** .v. 46, p.487–495, 2010. doi:10.1016/j.bone.2009.09.021

JOELLY ,W. B.; HINSHAW D.B.; KNIERIM K. Magnetic field effects on calcium efflux and insulin secretion in isolated rabbit islets of Langerhans. **Bioelectromagnetics** . v. 4, p.103–106,1983.

KACZMAREK, L.K. Non-conducting functions of voltage-gated ion channels. **Nature Rev Neurosci**. v. 7, p. 761-771, 2006. DOI: 10.1038/nrn1988

KEIZER, J.; MAGNUS, G. ATP-sensitive potassium channel and bursting in the pancreatic beta cell - A theoretical study. **Biophys. J**. v. 56, p. 229-242, 1989.

KEFALOYIANNI,E.; BAO,L.; RINDLER,M.J.; HONG,M.; PATEL,T.; TASKIN,E.; COETZEE,W.A. Measuring and evaluating the role of ATP-sensitive K⁺ channels in cardiac muscle. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**. v. 52, p. 596–607, 2012. doi:10.1016/j.yjmcc.2011.12.012

KHALILI-ARAGHI,F.; JOGINI,V.; YAROV-YAROVOY,V.; TAJKHORSHID,E.; ROUX,B. SCHULTEN,K. Calculation of the Gating Charge for the Kv1.2 Voltage-Activated Potassium Channel. **Biophysical Journal**. v. 98, p. 2189–2198, 2010. doi: 10.1016/j.bpj.2010.02.056

KIM, S-J.; LEE, Y-J.; KIM, J-B. Reduced expression and abnormal localization of the KATP channel subunit SUR2A in patients with familial hypokalemic periodic paralysis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 391, p. 974–978, 2010. doi:10.1016/j.bbrc.2009.11.177

KLEIJN,S; BOUWENS, B.M.; KEMENADE,L.V.V; JAN J.M. CUPPEN,J.J.M; FERWERDA,G; HERMANS,P.W.M. Extremely low frequency electromagnetic field exposure does not modulate toll-like receptor signaling in human peripheral blood mononuclear cells. **Cytokine**. v. 54, p.43–50, 2011. doi:10.1016/j.cyto.2010.12.01

KOCHERGINSKY, N. Voltage-sensitive ion channels, acidic lipids and Hodgkin–Huxley equations: New ideas 55 years later. **Journal of Membrane Science**. v. 328, p. 58–74, 2009. doi:10.1016/j.memsci.2008.10.024

KUNZELMANN, K. Ion Channels and Cancer. **J Membrane Biol**. v. 205, p. 159-173, 2005. DOI: 10.1007/s00232-005-0781-4

KUO, Y.C; LU, C.H. Modulation of efflux proteins by electromagnetic field for delivering azidothymidine and saquinavir into the brain. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 91, p. 291– 295, 2012. doi:10.1016/j.colsurfb.2011.11.02

LAITL-KOBIERSKA, A. ; CIESLAR, G. ; SIERON, A. ; Grzybek, H. Influence of alternating extremely low frequency ELF magnetic field on structure and function of pancreas in rats. **Bioelectromagnetics**. v. 23, p. 49–58,2002. DOI: 10.1002/bem.97

LEUNG, Y-M. Involvement of C-type inactivation gating in the actions of voltage-gated K⁺ channel inhibitors. **Pharmacology & Therapeutics**. v. 133, p.151–158, 2012. doi:10.1016/j.pharmthera.2011.10.005

LUJÁN, R. Organisation of potassium channels on the neuronal surface. **Journal of Chemical Neuroanatomy**. v. 40, p.1–20, 2010. doi:10.1016/j.jchemneu.2010.03.003

LIN , M.; ALADEJEBI ,O.;HOCKERMAN,G.H. Distinct properties of amlodipine and nifedipine block of the voltage-dependent Ca²⁺ channels Cav1.2 and Cav2.1 and the mutant channels Cav1.2/Dihydropyridine insensitive and Cav2.1/Dihydropyridine sensitive. **European Journal of Pharmacology**. v. 670, p.105–113, 2011. doi:10.1016/j.ejphar.2011.08.005

LIBURDY, R. P.; CALLAHAN ,D.E. ; HARLAND ,J. ; DUNHAM ,E. ; SLOMA ,T.R. ; YASWEN, P. Experimental evidence for 60 Hz magnetic fields operating through the signal transduction cascade. Effects on calcium influx and c-MYC mRNA induction. **FEBS**. v.334, p.301–308, 1993.

LUNDGREN, A.; HEDLUND, J.; ANDERSSON, O.; BRÄNDÉN, M.; KUNZE, A.; ELWING, H.; HÖÖK, F. Resonance-Mode Electrochemical Impedance Measurements of Silicon Dioxide Supported Lipid Bilayer Formation and Ion Channel Mediated Charge Transport. **Anal Chem**. v. 83, p. 7800-7806, 2011. DOI: dx.doi.org/10.1021/ac201273t

LIU, T-A.; CHANG, H-K.; SHIEH, R-C. Extracellular K⁺ elevates outward currents through Kir2.1 channels by increasing single-channel conductance. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1808, p. 1772–1778, 2011. doi:10.1016/j.bbamem.2011.02.016.

MAAROUFI,K; SAVE,E; POU CET,B; SAKLY,M;ABDELMELEK,H; AISSOUNI,L.H. Oxidative stress and prevention of the adaptive response to chronic iron overload in the brain of young adult rats exposed to a 150 kilohertz electromagnetic field. **Neuroscience**. v. 186, p.39–47, 2011. doi:10.1016/j.neuroscience.2011.04.003

MALASICS,A.; GILLESPIE,D.; NONNER,W.; HENDERSON,D.; EISENBERG,B.; BODA,D. Protein structure and ionic selectivity in calcium channels: Selectivity filter size, not shape, matters. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1788, p. 2471–2480, 2009. doi:10.1016/j.bbamem.2009.09.022

MCCOY, J.G.; NIMIGEAN, C.M. Structural correlates of selectivity and inactivation in potassium channels. **Biochimica et Biophysica Acta**.v. 1818, p. 272–285, 2012. doi:10.1016/j.bbamem.2011.09.007

MADEC,F.; BILLAUDEL,B.; SAUVAGE,R. C.; SARTOR,P.; VEYRET, B. Effects of ELF and static magnetic fields on calcium oscillations in islets of Langerhans. **Bioelectrochemistry**. v.60, p.73 – 80, 2003. doi:10.1016/S1567-5394(03)00049-5

MAGNUS,C.J.; LEE,P.H.; ATASOY,D.; SU,H.H.; LOOGER,L.L.; STERNSON,S. Chemical and Genetic Engineering of Selective Ion Channel–Ligand Interactions. **Science**. v. 333, 1292, 2011. DOI: 10.1126/science.1206606

MACDONALD, P. E.; RORSMAN,P. Oscillations, Intercellular Coupling, and Insulin Secretion in Pancreatic β Cells. **PLoS Biology**. v.4 ,p. e49, 2006. doi: 10.1371/journal.pbio.0040049

MESITI, F; FLOOR, P.A; KIMA, A. N; BALASINGHAM, I. On the modeling and analysis of the RF exposure on biological systems: A potential treatment strategy for neurodegenerative diseases. **Nano Communication Networks**. v., p., 2012. doi:10.1016/j.nancom.2012.02.00

MIGDALIS, L. N. Insulin analogs versus human insulin in type 2 diabetes. **Diabetes Research and clinical practice**. v.3s, p.s102-s104, 2011.

MUNOZ,C.; TÓVOLLI,R.H.; SOPJANI,M.; ALESUTAN,I.; LAM,R.S.; SEEBOHM,G.; FÖLLER,M.; LANG,F. Activation of voltage gated K⁺ channel Kv1.5 by b-catenin. **Biochemical and Biophysical Research Communications** . v. 417, p.692–696, 2012. doi:10.1016/j.bbrc.2011.11.156

NATHAN, D. M. International Expert Committee Report on the Role of the A1C Assay in the Diagnosis of Diabetes. **Diabetes care**, vol. 32, n. 7, 2009. doi: 10.2337/dc09-9033

PANDEY, S.; BORTEI-DOKUB, A.; WHITE, M.H. Simulation of biological ion channels with technology computer-aided design. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**. v. 85, p. 1–7, 2007. doi:10.1016/j.cmpb.2006.08.007

PARKASH, J.; ASOTRA, K. L-histidine sensing by calcium sensing receptor inhibits voltage-dependent calcium channel activity and insulin secretion in β -cells. **Life Sciences**.v. 88, p.440–446, 2011. doi:10.1016/j.lfs.2010.12.022

PEDERSEN, M. G. Phantom bursting is highly sensitive to noise and unlikely to account for slow bursting in b-cells: Considerations in favor of metabolically driven oscillations. **Journal of Theoretical Biology**. v. 248, p.391–400, 2007. doi:10.1016/j.jtbi.2007.05.03

PEDERSEN, M. G; CORTESE, G; ELIASSON, L. Mathematical modeling and statistical analysis of calcium-regulated insulin granule exocytosis in b-cells from mice and humans. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**. v. 107, p.257- 264, 2011. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2011.07.012

PEDERSEN, M. G; CORTESE, G; ELIASSON, L. Mathematical modeling and statistical analysis of calcium-regulated insulin granule exocytosis in b-cells from mice and humans. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**. v. 107, p.257-264, 2011. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2011.07.012

PROKS, P.; ASHCROFT, F. M. Modeling KATP channel gating and its regulation. **Review: Biophysics and Molecular Biology**, v. 99, p. 7–19, 2009.

QUESADA, I; TUDURI, E; RIPOLL, C; NADAL, A. Physiology of the pancreatic a-cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes. **Journal of Endocrinology**. v. 199, p. 5–19, 2008. doi: 10.1677/JOE-08-0290

RAJA, M. Diverse gating in K⁺ channels: Differential role of the pore-helix glutamate in stabilizing the channel pore. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v.413, p. 1–4, 2011. doi:10.1016/j.bbrc.2011.08.062

RESTREPO-ANGULO, I.; DE VIZCAYA-RUIZ, A.; CAMACHO, J. Ion channels in toxicology. **J Appl Toxicol**. v.30, p.497-512, 2010. DOI: 10.1002/jat.1556

RORSMAN, P; BRAUNA, M; ZHANG, Q. Regulation of calcium in pancreatic and β -cells in health and disease. **Cell Calcium**.v. 51, p.300– 308, 2012. doi:10.1016/j.ceca.2011.11.006

RORSMAN,P; ELIASSON, L; KANNO,T; ZHANG,Q; GOPEL,S. Electrophysiology of pancreatic b-cells in intact mouse islets of Langerhans. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**. v. 107, p. 224-235, 2011. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2011.06.009

ROSENGREN, A.H. Overexpression of Alpha2A-Adrenergic Receptors Contributes to Type 2 Diabetes. **Science**. v. 327, p.217, 2010. DOI: 10.1126/science.1176827

SAINT-MARTIN, C; ARNOUX, J-B. LONLAY, P.; BELLANNÉ-CHANTELOT, C. KATP channel mutations in congenital hyperinsulinism. **Seminars in Pediatric Surgery**. v. 20, p.18-22, 2011. doi:10.1053/j.sempedsurg.2010.10.012

SANCHES, A. C. C.; CORRER, C. J.; VENSON, R.; PONTAROLO, R. Revisiting the efficacy of long-acting insulin analogues on adults with type 1 diabetes using mixed-treatment comparisons. **Diabetes Research and Clinical Practice**. v.94, p. 333-339, 2011. doi:10.1016/j.diabres.2011.09.00

SANTOS, R.J. Introdução as Equações Diferenciais Ordinárias. **Imprensa Universitária da UFMG**, Belo Horizonte, 2011. Disponível em: <<http://www.mat.ufmg.br/~regi/eqdif/iedo.pdf>>. Acesso em: 14 maio 2012

SAKURAI, T.; SATAKE, A.; SUMI, S.; INOUE, K.; MIYAKOSHI, J. An Extremely Low Frequency Magnetic Field Attenuates Insulin Secretion From the Insulinoma Cell Line, RIN-m. **Bioelectromagnetics**. v. 25, p.160-166, 2004. doi: 10.1002/bem.10181

SAKURAI, T.; KOYAMA, S.; KOMATSUBARA, Y.; JIN, W.; MIYAKOSHI, J. Decrease in glucose-stimulated insulin secretion following exposure to magnetic fields. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v.332, p.28–32, 2005. doi:10.1016/j.bbrc.2005.04.091

SCHOEPF, D.; POTLURI, R.; UPPAL, H.; NATALWALA, R.; NARENDHAN, P.; HEUN, R. Type-2 diabetes mellitus in schizophrenia: Increased prevalence and major risk factor of excess mortality in a naturalistic 7-year follow-up. **European Psychiatry**. v. 27, p.33–42, 2012. doi:10.1016/j.eurpsy.2011.02.00

SHERMAN, A. Lessons from models of pancreatic β cells for engineering glucose-sensing cells. **Mathematical Biosciences**. v. 227, p.12–19, 2010. doi:10.1016/j.mbs.2010.05.005

SØE, R.; ANDREASEN, M.; KLAERKE, D.A. Modulation of Kir4.1 and Kir4.1-Kir5.1 channels by extracellular cation. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1788, p. 1706–1713, 2009. doi:10.1016/j.bbamem.2009.07.002

SIEROŃ et al. Effect of Low Frequency Electromagnetic Fields on [^3H]Glucose Uptake in Rat Tissues. **Polish J. of Environ. Stud.** V.16, n.2, p.309-312, 2007.

SONMEZA, O.F.; ODACIB, E.; BASCO, O.; KAPLAND, S. Purkinje cell number decreases in the adult female rat cerebellum following exposure to 900 MHz electromagnetic field. **Brain Research**. v.356, p.95-101, 2010. doi:10.1016/j.brainres.2010.07.10

SORIANO, S.; RIPOLL, C.; FUENTES, E.; GONZALEZ, A.; ALONSO-MAGDALENA, P.; ROPERO, A.B.; QUESADA, I.; NADAL, A. Regulation of KATP channel by 17β -estradiol in pancreatic β -cells. **Steroids**. v. 76, p.856–860, 2011. doi:10.1016/j.steroids.2011.03.017

SORIANO, D. C.; RICARDO, R.A.; BASSANI, J.W. M; Resolvendo o Modelo de Hodgkin - Huxley: Uma Proposta Didática, 10/2006, Científico Nacional, XX Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. v. 1, p.29-32, São Pedro, SP, BRASIL, 2006.

SZEMERSZKY, R.; ZELENA, D.; BARNA, I.; BARDOS, G. Stress-related endocrinological and psychopathological effects of short-and long-term 50 Hz electromagnetic field exposure in rats. **Brain Research Bulletin**, v. 81, p. 92–99, 2010. doi:10.1016/j.brainresbull.2009.10.015

TABATABAEI-MALAZY, O.; LARIJANI, B.; ABDOLLAHI, M. A novel management of diabetes by means of strong antioxidants' combination. **Journal of Medical Hypotheses and Ideas**. v.7, p.25–30, 2013. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jmhi.2012.12.002

TARVINDER, T; MANKOURI, J; KARNIK, R; KANNAN, S; SMITH, A; MUNSEY, T; CHRISTESEN, H; BEECH, D; SIVAPRASADARAO, A. Sar1-GTPase-dependent ER exit of KATP channels revealed by a mutation causing congenital hyperinsulinism. **Human Molecular Genetics**, v. 18, n. 13, p. 2400-2413, 2009. doi: 10.1093/hmg/ddp179

TENGHOLM, A; GYLFE, E. Oscillatory control of insulin secretion. **Molecular and Cellular Endocrinology**. v. 297, p.58–72, 2009. doi:10.1016/j.mce.2008.07.00

THOREL, F et al. Conversion of adult pancreatic α -cells to β -cells after extreme β -cell loss. **Nature**, 2010. doi:10.1038/nature08894

URBANO, F.J.; PAGANI, M.R.; UCHITEL, O.D. Calcium channels, neuromuscular synaptic transmission and neurological diseases. **J Neuroimmunol**. v. 201, v. 202, p. 136-144, 2008. doi:10.1016/j.jneuroim.2008.06.031

VARANDA, W.A.; LIEBOVITCH, L.S.; FIGUEIROA, J.N.; NOGUEIRA, R.A. Hurst Analysis Applied to the Study of Single Calcium-activated Potassium Channel Kinetics. **J Theor Biol**. v. 206, p. 343-353, 2000. DOI: 10.1006/jtbi.2000.2131

VISTISEN, D; LEE, C.M.Y; COLAGIURI, S; JOHNSEN, K.B; GLUMER, C. A globally applicable screening model for detecting individuals with undiagnosed diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**.v.95, p.432-438, 2012. doi:10.1016/j.diabres.2011.11.01

WANG, C.N; MA, J; JIN, W.Y; WUD, Y. Electric Field-induced dynamical evolution of spiral wave in the regular networks of Hodgkin–Huxley neurons. **Applied Mathematics and Computation**. v. 218, p. 4467–4474, 2011. doi:10.1016/j.amc.2011.10.027

WANG, J; CHE, Y.Q; ZHOU, S.S; DENG, B. Unidirectional synchronization of Hodgkin–Huxley neurons exposed to ELF electric field. **Chaos, Solitons and Fractals**. v. 39, p.1335–1345, 2009. doi:10.1016/j.chaos.2007.05.016

WATTS, M; TABAK, J; ZIMLIKI, C; SHERMAN, A; BERTRAM, R. Slow variable dominance and phase resetting in phantom bursting. **Journal of Theoretical Biology**.v. 276, p.218–228, 2011. doi:10.1016/j.jtbi.2011.01.042

WESTERHAUS, B; GOSMANOV, A. R; UMPIERREZA, G. E. Diabetes prevention: Can insulin secretagogues do the job? **Primary Care Diabetes.** v.5, p.3-80, 2011. doi:10.1016/j.pcd.2010.11.00

WERTHEIMER ,N; LEEPER ,E. Electrical wiring configurations and childhood cancer. **Am J Epidemiol.** v.109,p.273–84,1979.

WHITING, D.R; GUARIGUATA, L; WEIL, C; SHAW, J. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030.**Diabetes research and Clinical Practice.**v.94, p. 311-321, 2011. doi:10.1016/j.diabres.2011.10.02

WOOLLEY, G.A.; LOUGHEED,T. Modeling ion channel regulation. **Current Opinion in Chemical Biology.** v.7,p. 710–714,2003. DOI 10.1016/j.cbpa.2003.10.003

YANG, S-N.; BERGGREN, P-O. β -Cell CaV channel regulation in physiology and pathophysiology. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** v. 288, p.E16-E28, 2005. doi:10.1152/ajpendo.00042.2004

YOSHIDA, M.; NAKATA,M.; YAMATO, S.; DEZAKI ,K.; SUGAWARA,H.; ISHIKAWA, S.; KAWAKAMI, M.; YADA ,T.; KAKELM. Voltage-dependent metabolic regulation of Kv2.1 channels in pancreatic b-cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications.** v. 396, p.304–309, 2010. doi:10.1016/j.bbrc.2010.04.088

ZÜNKLER, B.J. Human ether-a-go-go-related (HERG) gene and ATP-sensitive potassium channels as targets for adverse drug effects. **Pharmacology & Therapeutics.** v. 112, p. 12–37, 2006. doi:10.1016/j.pharmthera.2006.03.002

Capítulo Único:

60 Hz electric field changes the membrane potential during burst phase in pancreatic β cells: *in silico* analysis

60 Hz electric field changes the membrane potential during burst phase in pancreatic β cells: *in silico* analysis

Gesilda Florenço das Neves¹; José Radamés Ferreira da Silva¹; Renato Barros Moraes¹; Thiago de Salazar e Fernandes²; Bruno Mendes Tenorio¹ and Romildo de Albuquerque Nogueira^{1*}

¹ *Laboratory of Theoretical and Experimental Biophysics, Department of Animal Morphology and Physiology, Federal Rural University of Pernambuco, Brazil.*

² *Laboratory of Cellular and Molecular Biophysics, Department of Biophysics, Federal University of Pernambuco, Brazil.*

* Corresponding author: Department of Animal Morphology and Physiology, Federal Rural University of Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, Pernambuco, Brazil. E-mail: ran.pe@terra.com.br. Phone: 55 81 33206395

Abstract

The production, distribution and use of electricity can generate low frequency electric and magnetic fields (50-60 Hz). Considering that some studies showed adverse effects on pancreatic β -cells exposed to these fields; the present study aimed to analyze the effects of 60 Hz electric fields on membrane potential during burst phase in pancreatic β -cells using mathematical models. Sinusoidal 60 Hz electric fields with amplitude ranging from 0.5 to 4 mV were used to interact with pancreatic β -cells. The electric field changed the membrane potential, reduced the burst duration, inter-bursts intervals and spikes per burst counts, as well as increased the bursts amount and spikes size. The gating particles kinetics that controls the burst (S_1 and S_2) also changed after interaction with the electric field. Results also suggest a dose-dependent response for the burst duration, inter-bursts intervals and spikes per burst in function of the voltage amplitude applied. Electric field interaction increased the complexity of membrane burst and gating particles S_1 and S_2 in pancreatic β -cells, showing a greater diversity of patterns, reduced self-similarity and greater randomness. In conclusion, theoretical analyses showed that low frequency electric fields may change the membrane potential in the burst phase in pancreatic β -cells.

Keywords: non-ionizing radiation, pancreatic β -cells, electrical activity, burst, complexity of Lempel-Ziv.

1 Introduction

Humans have been exposed to natural sources of radiation such as electromagnetic radiation emitted by the sun, cosmic rays and earth's magnetic field. However, in the last century there was a great increase of human exposure to artificial radiation, especially at low frequencies (Vázquez-García et al. 2004). The production, distribution and use of electricity can generate low frequency electric and magnetic fields (EMF) usually with frequencies of 50 and 60 Hz (Tenorio et al. 2011). Currently, there is a worldwide debate about the health risks due to exposure to low frequency EMF. Several studies described adverse effects related to these fields while others observed no interactions with the biological systems (Tenorio et al. 2012; Sakurai et al. 2004).

EMF can influence ions mechanisms and processes dependent on the membrane potential, such as Ca^{2+} influx and transport molecules. Studies suggested that exposure to low frequency EMF may change cellular functions and membrane proteins; including ion channels (Grassi et al. 2004). Ion channels are basically formed by proteins, which can assume open and closed conformational states. This is a phenomenon called ion channel kinetics that modulates the ionic currents crossing the plasma membrane. Electric field, ions and other substances can control the transitions between these open and closed states (Costa et al. 2002).

Studies also reported that EMF can interact with ionic fluxes, especially calcium. According to Fan et al. (2012), magnetic field with low frequency (7 Hz) and high amplitude (6-25 mT) can change Ca^{2+} channels currents in HEK 293 cells. Exposure of adrenal cells to magnetic field with 1.5 T also induced changes in intracellular Ca^{2+} (Ikehara et al. 2010).

Ion channels are fundamental to the electrical activity of pancreatic β -cells, influencing glucose metabolism and insulin synthesis. Changes in insulin secretion may trigger Diabetes Mellitus (DM), a systemic disease that occurs when insulin released from pancreatic β -cells does not maintain the normal levels of glucose in the blood (D'Aleo et al. 2011). Considering that diabetes may be related to abnormal electrical

activity in pancreatic β -cells and the majority of the population are daily exposed to low frequency electric and magnetic fields, this study aimed to analyze whether 60 Hz electric field with amplitude ranging from 0.5 to 4 mV can change the membrane potential during burst phase in pancreatic β cells using mathematical models as described by Bertram et al. (2000).

2 Methods

Simulation of electrical activity of pancreatic β -cells was performed using the solution of differential equations proposed by Bertram et al. (2000) to simulate the electrical behavior of β -cell membrane. All simulations of cellular electrical activity were performed using the software XPPAUT version 6.10 (Bard Ermentrout 2002 - 2011) modified from Ermentrout (1987).

2.1 Model of electrical activity in β -pancreatic cells

Membrane electrical activity in β cells was simulated using ordinary differential equations proposed by Bertram et al. (2000), as follows:

$$\frac{dV}{dt} = -(I_{Ca} + I_K + I_{S1} + I_{S2} + I_l)/Cm \quad (1)$$

In which the calcium, potassium, calcium-activated potassium and ATP-activated potassium channels and leakage currents can be described as follow:

$$\begin{aligned} I_{Ca} &= G_{Ca}m_{\infty}(V)(V - V_{Ca}) \\ I_K &= G_Kn(V - V_K) \\ I_{S1} &= G_{S1}S_1(V - V_K) \\ I_{S2} &= G_{S2}S_2(V - V_K) \\ I_l &= G_L (V - V_L) \end{aligned} \quad (2)$$

and the gating particles n , S_1 and S_2 can be described by the equations:

$$\begin{aligned} \frac{dn}{dt} &= (n_{\infty}(V) - n)/t_n \\ \frac{dS_1}{dt} &= (S_{1\infty}(V) - S_1)/t_{S1} \\ \frac{dS_2}{dt} &= (S_{2\infty}(V) - S_2)/t_{S2} \end{aligned} \quad (3)$$

The variable V represents the membrane potential (mV); t is time (ms) and the variables n , S_1 and S_2 represent, respectively, the gating particles of potassium channels, calcium-activated potassium channels and ATP-activated potassium channels.

The equations above represent the principal ionic currents in beta cells, which are responsible for pancreatic secretion and exocytosis of insulin. I_{Ca} is a rapid Ca^{2+} current, which is activated instantaneously by voltage; I_K is a rapid voltage dependent K^+ current; I_L is the leakage current; I_{KCa} , is a K^+ current activated by cytosolic Ca^{2+} and I_{KATP} is a K^+ current activated by the increase in the relation ADP/ATP in β -pancreatic cells. Gate particles m , n , S_1 and S_2 in the stationary state and time constant t_n are sigmoidal functions of the voltage applied to the membrane:

$$\begin{aligned}
 m_{\infty}(V) &= \frac{1}{1 + \exp[(-22 - V)/7.5]} \\
 n_{\infty}(V) &= \frac{1}{1 + \exp[(-9 - V)/10]} \\
 S_{1\infty}(V) &= \frac{1}{1 + \exp[(-40 - V)/0.5]} \\
 S_{2\infty}(V) &= \frac{1}{1 + \exp[(-42 - V)/0.4]} \\
 t_n(V) &= \frac{8.3}{1 + \exp[(V + 9)/10]}
 \end{aligned}
 \tag{4}$$

Besides these equations, parameters and values used in the simulation of β cells electrical activity are shown in Table 1.

2.2 Model of electric field

In the equations of electrical activity in pancreatic β -cells was inserted a new equation corresponding to the interaction with a sinusoidal electric field. This electric potential equation was previously described by Cain (1980) and applied to model Hodgkin and Huxley.

$$V_E = A \times \cos\omega t \tag{5}$$

Where A is the wave amplitude, ω is equal to $2\pi f$ and f is the frequency. The frequency used was 60 Hz and the amplitude ranged from 0.5 to 4 mV. The new parameter V_E acts as an external transmembrane voltage applied to β -pancreatic cells. Formally, the external electrical field can be introduced in the β -pancreatic model as follow:

$$\begin{aligned} \frac{dV}{dt} &= -(I_{Ca} + I_K + I_{S1} + I_{S2} + I_l)/Cm \\ I_{Ca} &= G_{Ca}m_{\infty}(V)(V + V_E - V_{Ca}) \\ I_K &= G_Kn(V + V_E - V_K) \\ I_{S1} &= G_{S1}S_1(V + V_E - V_K) \\ I_{S2} &= G_{S2}S_2(V + V_E - V_K) \\ I_l &= G_L(V + V_E - V_L) \end{aligned} \quad (6)$$

Differential equations above and differential equations proposed for gating particles n, m, S_1 , S_2 in the stationary state constitute the system of differential equations whose solution simulate the potential across the plasma membrane in pancreatic β -cells. Each simulation produced a record of voltage across the membrane of β -cells in function of time for a simulation of 600 seconds. All analyses were performed in 30 records for each amplitude of the 60 Hz electric field.

Quantitative analyzes of the electric field interaction with pancreatic β -cells were performed through counting of bursts, bursts duration, inter-burst intervals, spikes size and spikes per burst number.

2.3 Complexity of Lempel-Ziv

The complexity of Lempel-Ziv (CLZ) is a methodology to measure the complexity in a one-dimensional signal that does not require long data segments to compute (Ábsolo et al. 2006). To calculate the CLZ is necessary to transform the time series in a binary sequence generated from the comparison of each point of the time series with a mean (m) of all points in the series. If the point value is higher than the average, it is represented by 1, if this value is lower than the average, it is represented by 0. Therefore, we obtained a binary sequence (Q) composed of 0 and 1 (Aboy et al. 2006). Subsequently, the Lempel-Ziv algorithm previously described by Aboy et al. (2006) was used to calculate the CLZ. This CLZ is a value between 0 and 1, values

closer to 1 indicates greater complexity and the signal behavior is more random; while values closer to 0 indicates a lower complexity, indicating an increased self-similarity.

2.4 Statistical analysis

Statistical design was performed using the nonparametric test of Kruskal-Wallis with Dunn's post-hoc test for multiple comparisons. Results were expressed by median \pm standard deviation. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

3 Results

3.1 Analyzes of burst phase in pancreatic β -cell

Figure 1A shows the solution of the differential equations model to simulate the electrical activity of pancreatic β -cell (Control). The interaction of cells with the 60 Hz electric potential with amplitude 0.5 mV (Fig 1B), 1 mV (Fig 1C), 2 mV (Fig 1D) and 3 mV (Fig 1E) resulted in shorter and variables silent phases and burst phases with irregular spikes in greater amplitudes of the electric potential. Furthermore, cells interaction with the electric potential sinusoidal of amplitude 4 mV (Fig 1F) showed irregular spikes, some spikes were shorter and other longer than control and the silent phases were also shorter than control.

Duration of the bursts is shown in Figure 2, electric field interaction induced a reduction in bursts duration for amplitudes between 0.5 and 4 mV. It is interesting to note that initially the burst duration tends to decrease with the amplitude of the voltage applied between 0.5 to 3 mV and subsequently tends to increase up to 4 mV; amplitudes greater than 5 mV appear to inhibit the electrical activity in pancreatic β -cell.

Pancreatic β -cells interaction with the electric field increased the number of bursts in 600 seconds of electrical activity. Intriguingly, the behavior of burst numbers was the opposite of the burst duration, while the count of bursts showed an increase up to amplitude 3 mV and a decrease between 3 to 4 mV, the duration of bursts showed a reduction up to 3 mV and an increase between 3 to 4 mV. Apparently, the β -cells may increase the amount of bursts to compensate for the shorter duration of these bursts in order to maintain their functional capacity. The quantities of each burst amplitude of applied voltage were: control (34 burst), 0.5mV(58 burst), 1mV(69 burst), 1.5mV(74

burst), 2mV(77 burst), 2.5mV(71 burst), 3mV(79 burst), 3.5mV(73 burst) and 4mV(56 burst).

Figure 3 shows a reduction of the inter-burst intervals after interaction with the electric voltage of amplitudes between 1 to 4 mV, indicating that cells spent less time in the silent phase and consequently less time in the cell resting potential.

The amount of spikes per burst also reduced after interaction of pancreatic β -cells with the electric voltage of amplitude from 0.5 to 2.5 mV (Fig 4). This reduction in the amount of spikes indicates a lower variation in the membrane potential during the active phase, which could cause a lower release of intracellular calcium and thus reduce insulin release. Figure 5 shows an increased spikes size in the records of bursts after interaction with the electric field of amplitudes from 2 to 4 mV, this also indicates a greater variation of membrane potential after application of electric field.

Interaction of pancreatic β -cells with the electric field also changed the behavior of gating particles S_1 and S_2 , these particles showed more irregular records than control (Fig 6).

In order to better understand the changes caused by the electric field in the simulations of membrane potential in pancreatic β -cells, we performed the analysis of Lempel-Ziv complexity. Figure 7 shows an increase in the complexity of Lempel-Ziv in records of membrane potential after interaction with the electric field of amplitudes from 0.5 to 4 mV. The kinetics of the gating particles S_1 and S_2 also showed an increased complexity of Lempel-Ziv compared to controls. Note that the kinetics of the particle S_2 initially tends to increase their complexity but voltage applied of amplitudes between 1 to 4 mV tend to reduce their complexity. This increased complexity of Lempel-Ziv indicates that the signal loses auto-similarity, increasing its complexity and randomness.

4 Discussion

4.1 Electrical activity of pancreatic β -cell after interaction with 60 Hz electric field

The results showed in the present study suggest that low frequency electric fields change the membrane potential and gating particles S_1 and S_2 in burst phase of electrical activity in pancreatic β -cells. Burst phenomenon was first reported during *in vitro*

studies in pancreatic islets by Mathews and Dean (1970). Burst phases occur repeatedly and are closely related to the regulation of glucose-induced insulin secretion in β -pancreatic cells (Barg 2001; Cha 2011).

During active phase the membrane potential oscillates rapidly, while during the silent phase it maintains an activity type pacemaker. The burst activity can be observed over a plateau that occurs in the active phase (burst). This value is physiologically very important and several studies reported a direct correlation between the plateau phase and the rate of insulin release (Meissner and Schlemz 1974; Meissner 1976). Intracellular calcium concentration increases during the active phase; calcium has a key role in the secretion of insulin (Aguirre et al. 2004; Ashcroft and Gribble 1999; Braun et al. 2008; Fridlyand et al. 2010). A decrease in the intracellular calcium concentration during the resting period (silent phase) leads to a decrease in the current through K_{Ca} channels and then membrane depolarization and burst initiation (Fridlyand et al. 2010).

The rising in the plasma glucose concentration increases intracellular concentration of ATP in beta cells, which in turn inhibit K_{ATP} channels and depolarize the cell (active phase). When the plasma glucose concentrations decline, intracellular concentration of ATP decrease and K_{ATP} channels become more active, hyperpolarizing the cell, closing the calcium channels and ending the secretion of insulin (Fridlyand et al. 2005; Kim 2010). A reduction in metabolism also opens K_{ATP} channels, inducing K^+ efflux, membrane hyperpolarization and suppression of electrical activity (Ashcroft 2005).

Gating particles S_1 and S_2 are related with K_{Ca} and K_{ATP} channels currents, respectively. Our results suggest an interaction of the electric field with the gating particle S_1 and S_2 and consequently with K_{Ca} and K_{ATP} channels. K_{ATP} channels are regulated by fluctuations in the intracellular concentration of ATP or MgADP and regulate the duration of bursts (Cha et al. 2011). K_{Ca} channels currents are mainly regulated by the intracellular Ca^{2+} concentration, previously studies also showed changes in Ca^{2+} signaling after exposure to low frequency electric and magnetic fields (Manikonda et al. 2007; Chang et al. 2012).

In our simulation, the electric field interaction induced a reduction of burst duration in membrane potential of β -pancreatic cells, as bursts are positively related with Ca^{2+} concentration (Aguirre et al. 2004), this reduction of burst duration also

suggests a decreased concentration of intracellular Ca^{2+} . According to Chang et al. (2012), extremely low frequency electric field can interact with the nerve cell, changing the Ca^{2+} oscillations and the function of neural system. Liboff (1994) suggested that electric fields may indirectly affect the signaling pathway by either reinforcing or altering the frequency of the intrinsic cytosolic Ca^{2+} oscillations.

In the present study we showed that the behavior of β -cells electrical activity depends on the voltage amplitude applied by the 60 Hz electric field. These results may help to justify the contradictory reports in the literature about the stimulation / inhibition of pancreatic β -cells due to exposure to extremely low frequency electric and magnetic fields. There are few studies about the effects of low frequency electric fields on the function of pancreatic islets and the comparison between these studies is complicated due to the use of different methodologies.

According to Joelly et al. (1983), exposure to low frequency electromagnetic fields can reduce the Ca^{2+} concentrations and insulin secretion during stimulation by glucose in pancreatic islets of rabbits. Exposure to 50 Hz and 20 – 50 mT magnetic field induced a decrease in plasma glucose concentration (Hefco et al. 1969). Sakurai et al. (2004) also reported the inhibition of insulin release stimulated by glucose in islets of newborn mice due to exposure to low frequency electromagnetic fields. On the other hand, Laitl-Kobierska et al. (2002) showed an increased synthesis and secretion of insulin in pancreatic cells of rats exposed to extremely low frequency magnetic field. Sakurai et al (2008) observed that extremely low frequency magnetic field (60 Hz, 5mT) induced an increased number of β -cell and increased insulin secretion. Sakurai et al. (2005) demonstrated that glucose-stimulated insulin secretion decreased by exposure to 60 Hz and 5 mT electromagnetic fields. Gholampour et al. (2011) showed an increase in insulin level and size of pancreatic islets, as well as a decrease in glucose level of adult male Wistar rats exposed to 50 Hz and 1 mT electromagnetic fields.

Our results corroborate with Hayek et al. (1984), suggesting that pancreatic β -cells and insulin secretion may be changed after electric and magnetic fields exposure in a dose-dependent manner.

The present study also used the mathematical method complexity of Lempel-Ziv to analyze the gating particles S_1 and S_2 , as well as the membrane potential after interaction with the electric field; this method allows the perception of changes that can

not be visually noted. In recent years, complexity of Lempel-Ziv has been widely used in biomedical applications to estimate the complexity of discrete-time signals (Aboy, et al, 2006).

The electric field interaction increased the complexity of electrical activity in pancreatic β -cells, showing a greater diversity of patterns, reduced self-similarity and increased randomness. This complexity pattern seems to inhibit the membrane potential in pancreatic β -cells.

5 Conclusion

The computational modeling showed an interaction between the low frequency electric fields and the electrical activity of pancreatic β -cells. The electric field changed the membrane potential, reduced the burst duration, inter-bursts intervals and spikes per burst, as well as increased the bursts amount and spikes size. Gating particles S_1 and S_2 also changed after interaction with the electric field. The results also suggest a dose-dependent response of β -cells electrical activity due to variation in voltage amplitude applied.

6 Acknowledgements

We would like to thank Prof. Dr. Luis Hamiel Almeida Consoni from the University Federal of Pernambuco for helping in discussion about the Hodgkin and Huxley model, Prof. Dr. Bard Ermentrout from the University of Pittsburgh by suggestions in the simulation and Capes for the master scholarship.

7 References

- Aboy M, Hornero R, Abásolo D, Álvarez D (2006) Interpretation of the Lempel-Ziv Complexity Measure in the Context of Biomedical Signal Analysis. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 53, 2282:8.
- Ashcroft FM (2005) ATP-sensitive potassium channelopathies: focus on insulin secretion. *Clin Invest* 115: 2047–2058. doi:10.1172/JCI25495.
- Ashcroft MF, Gribble FM (1999) ATP-sensitive K^+ channels and insulin secretion: their role in health and disease. *Diabetologia* 42: 903-919.

NEVES, G.F. *Análise teórica do efeito de campo eletromagnético de 60 Hz na atividade elétrica das células β -pancreáticas.*

Aguirre J, Mosekilde E, Sanjuán MAF (2004) Analysis of the noise-induced bursting-spiking transition in a pancreatic β -cell model. *PACS* 69: 041910. doi: 10.1103/PhysRevE.69.041910

Barg S et al (2001) Fast Exocytosis with Few Ca^{2+} Channels in Insulin-Secreting Mouse Pancreatic β - Cells. *Biophys Journal* 81:3308–3323.

Bertram R, Previte J, Sherman A, Kinard TA, Satin LS (2000) The Phantom Burster Model for Pancreatic β -Cells. *Biophys J* 79:2880–2892.

Braun M, Ramracheya R, Bengtsson M et al (2008) Voltage-Gated Ion Channels in Human Pancreatic β -Cells: Electrophysiological Characterization and Role in Insulin Secretion. *Diabetes* 57: 1618-28. doi: 10.2337/db07-0991.

Cain CA (1980) Theoretical Basis for Microwave and RF Field Effects on Excitable Cellular Membranes. *IEEE Trans Microw Theory Techn* 28:142-147.

Cha CY, Powell T, Noma A (2011) Analyzing electrical activities of pancreatic β cells using mathematical models. *Prog Biophys Mol Biol* 107:265-273. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2011.08.00

Chang L, Wang J, Deng, B, Wei X, Li H (2012) The effect of extreme low frequency external electric field on the adaptability in the Ermentrout model. *Neurocomputing*.81: 67–74. doi:10.1016/j.neucom.2011.11.015

Costa JG, Moura MA, Consoni L, Nogueira RA (2002) Can electromagnetic radiations induce changes in the kinetics of voltage-dependent ion channels? *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 48: 577-583.

D'aleo A, Mancarella R, Guerra SD, Boggi U, Filipponi F, Marchetti P, Lupi R (2011) Direct effects of rapid-acting insulin analogues on insulin signaling in human pancreatic islets in vitro. *Diabetes Metab* 37:324–329. doi: 10.1016/j.diabet.2010.12.002

Dean PM, Matthews K (1970) Electrical activity in pancreatic islet cells: Effect of ions. *J. Physiol* 210: 265-275.

Ermentrout B (1987) *Simulating, Analyzing, and Animating Dynamical Systems: A Guide to XPPAUT for Researchers and Students.* SIAM: Philadelphia.

Fan J et al (2012) Effect of pulse magnetic field stimulation on calcium channel current. *J. Magn. Magn. Mater* 324:3491–3494. doi:10.1016/j.jmmm.2012.02.073

NEVES, G.F. *Análise teórica do efeito de campo eletromagnético de 60 Hz na atividade elétrica das células β -pancreáticas.*

Fridlyand L, Li MA, Philipson L (2005) Adenine nucleotide regulation in pancreatic β -cells: modeling of ATP/ADP- Ca^{2+} interactions. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289:E839-E848. doi: 10.1152/ajpendo.00595.2004

Fridlyand L, Tamarina N, Philipson L (2010) Bursting and calcium oscillations in pancreatic β -cells: specific pacemakers for specific mechanisms. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 299:E517–E532. doi: 10.1152/ajpendo.00177.2010

Grassi C, D'Ascenzo M, Torsello A, Martinotti G, Wolf F, Cittadini A, Azzena GB (2004) Effects of 50 Hz electromagnetic fields on voltage-gated Ca^{2+} channels and their role in modulation of neuroendocrine cell proliferation and death. *Cell Calcium* 35:307–315. doi:10.1016/j.ceca.2003.09.00

Gholampour F, Javadifar T S, Owji S M, Bahaoddini A (2011) Prolonged exposure to extremely low frequency electromagnetic field affects endocrine secretion and structure of pancreas in rats. *Int. J. Zool. Res* 4: 338-344. doi: 10.3923/ijzr.2011.

Hayek A, Guardian C, Guardian J, Obarski G (1984) Homogeneous magnetic fields influence pancreatic islet function in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 122:191-196.

Hefco V, Hefco E, Birca C (1969) Influence of the magnetic field on glycemia, pyruvic acid and lactic acid in white rat blood. *Rev Roum Biol-Zoologie* 14:79-85.

Ikehara T et al (2010) Effects of exposure to a time-varying 1.5 T magnetic field on the neurotransmitter-activated increase in intracellular Ca^{2+} in relation to actin fiber and mitochondrial functions in bovine adrenal chromaffin cells. *Biochim Biophys Acta* 1800:1221–1230. doi:10.1016/j.bbagen.2010.09.001

Kim SJ, Lee YJ, Kim JB (2010) Reduced expression and abnormal localization of the KATP channel subunit SUR2A in patients with familial hypokalemic periodic paralysis. *Biochem Biophys Res Commun* 391:974–978. doi:10.1016/j.bbrc.2009.11.177

Joelly WB, Hinshaw DB, Knierim K (1983) Magnetic field effects on calcium efflux and insulin secretion in isolated rabbit islets of Langerhans. *Bioelectromagnetics* 4:103–106.

Laitl-Kobierska A, Cieslar G, Sieron A, Grzybek H (2002) Influence of alternating extremely low frequency ELF magnetic field on structure and function of pancreas in rats. *Bioelectromagnetics* 23:49–58. DOI: 10.1002/bem.97

NEVES, G.F. *Análise teórica do efeito de campo eletromagnético de 60 Hz na atividade elétrica das células β -pancreáticas.*

Liboff AR (1994) The electromagnetic fields as a biological variable. In: On the Nature of Electromagnetic Field Interactions with Biological Systems. R.G.Landes Company, Medical Intelligence Unit, USA, pp 73–82.

Manikonda, PK et al (2007) Influence of extremely low frequency magnetic fields on Ca^{2+} signaling and NMDA receptor functions in rat hippocampus. *Neurosci Lett* 413:145–149.

Meissner, HP, Schmelz H (1974) Membrane potential of beta-cells in pancreatic islets. *Pflüegers Arch.* 351: 195–206.

Meissner HP (1976) Características elétricas das células beta de ilhotas pancreáticas. *J Physiol (Paris)* .72 (6) :757-767.

Sakurai T, Satake A, Sumi S, Inoue K, Miyakoshi J (2004) An Extremely Low Frequency Magnetic Field Attenuates Insulin Secretion From the Insulinoma Cell Line, RIN-m. *Bioelectromagnetics* 25:160-166.doi: 10.1002/bem.10181

Sakurai T, Koyama S, Komatsubara Y, Jin W, Miyakoshi J (2005) Decrease in glucose-stimulated insulin secretion following exposure to magnetic fields. *Biochem Biophys Res Commun* 332:28–32. doi:10.1016/j.bbrc.2005.04.091

Sakurai T, Yoshimoto M, Koyama S, Miyakoshi J (2008) Exposure to Extremely Low Frequency Magnetic Fields Affects Insulin-Secreting Cells. *Bioelectromagnetics* 29:118-124. doi: 10.1002/bem.20370

Tenorio BM et al (2012) Evaluation of testicular degeneration induced by low-frequency electromagnetic fields. *J Appl Toxicol* 32:210-218. doi: 10.1002/jat.1680

Tenorio BM et al (2011) Testicular development evaluation in rats exposed to 60 Hz and 1 mT electromagnetic field. *J Appl Toxicol* 31:223-230. DOI: 10.1002/jat.1584

Vázquez-García MV et al (2004) Exposure to extremely low-frequency electromagnetic fields improves social recognition in male rats. *Physiol Behav* 82:685 – 690. doi:10.1016/j.physbeh.2004.06.004

Table 1. Parameters used in the model of pancreatic β cells electrical activity (Bertram et al. 2000; Watts et al. 2011).

Parameters	Values	Units	Variables
C_m	4524	fF	membrane capacitance
G_{Ca}	280	pS	fast Ca^{2+} current conductance
G_K	1300	pS	fast K^+ current conductance
G_L	25	pS	leakage current conductance
GS_1	3–20	pS	slow K^+ conductance
GS_2	32	pS	very slow K^+ conductance
V_{Ca}	100	mV	Ca^{2+} reversal potential
V_k	80	mV	K^+ reversal potential
V_L	-40	mV	leakage reversal potential
τ_{S1}	1	s	time constant
τ_{S2}	2	min	time constant

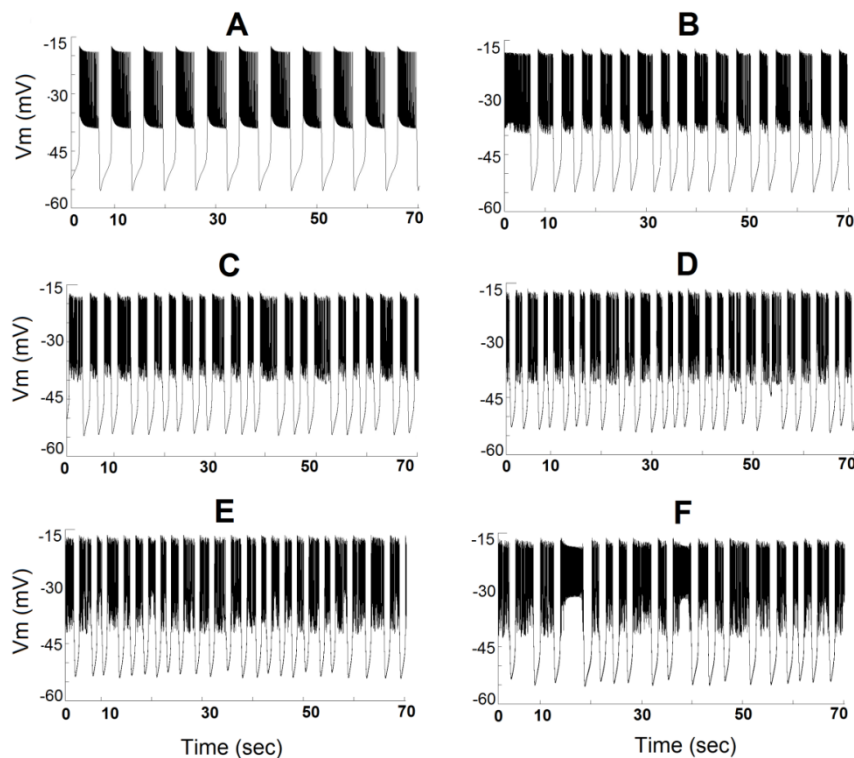


Fig 1. Electrical activity simulations of pancreatic β -cells (control – A) exposed to sinusoidal electric field with 60 Hz and amplitudes 0.5 mV (B), 1 mV (C), 2 mV (D), 3 mV (E) and 4 mV (F).

NEVES, G.F. *Análise teórica do efeito de campo eletromagnético de 60 Hz na atividade elétrica das células β -pancreáticas.*

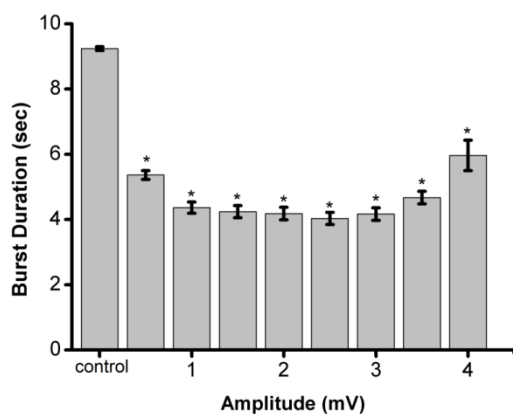


Fig 2. Burst duration (seconds) of electrical activity simulation in pancreatic β -cells exposed to electric field with 60 Hz and amplitudes from 0.5 mV to 4 mV. * Statistically different from control.

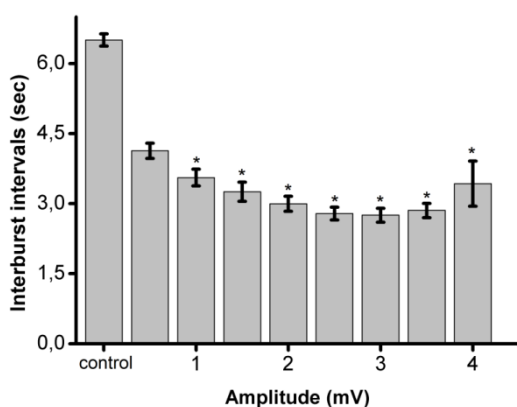


Fig 3. Inter-bursts intervals of electrical activity simulation in pancreatic β -cells exposed to electric field with 60 Hz and amplitudes from 0.5 mV to 4 mV. * Statistically different from control.

NEVES, G.F. *Análise teórica do efeito de campo eletromagnético de 60 Hz na atividade elétrica das células β -pancreáticas.*

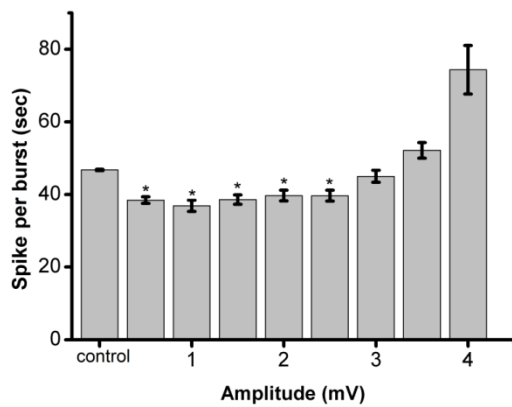


Fig 4. Spike per burst of electrical activity simulation in pancreatic β -cells exposed to electric field with 60 Hz and amplitudes from 0.5 mV to 4 mV. * Statistically different from control.

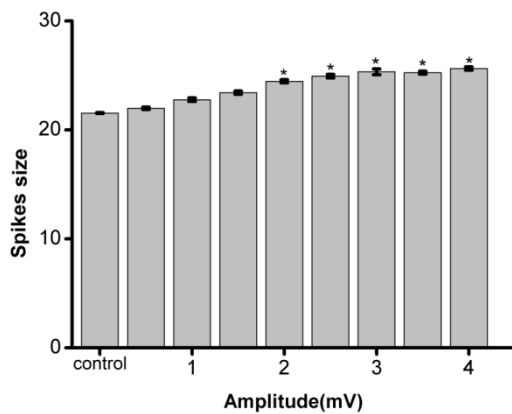


Fig 5. Spikes size of electrical activity simulation in pancreatic β -cells exposed to electric field with 60 Hz and amplitudes from 0.5 mV to 4 mV. * Statistically different from control.

NEVES, G.F. *Análise teórica do efeito de campo eletromagnético de 60 Hz na atividade elétrica das células β -pancreáticas.*

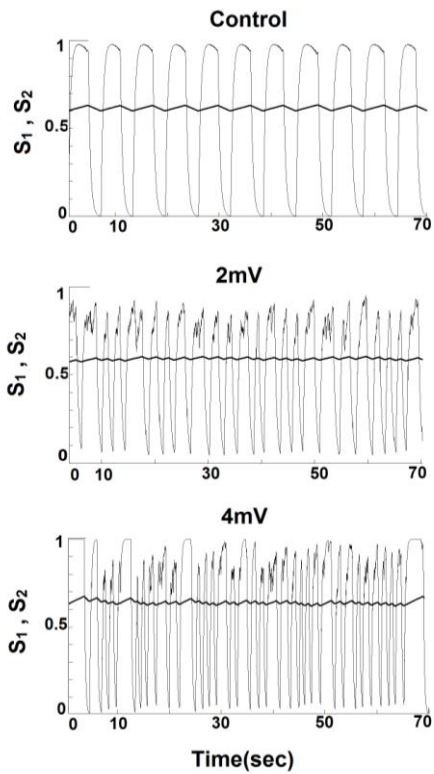


Fig 6. Gating particles S_1 (thin line) and S_2 (thick line) related to K_{Ca} and K_{ATP} channels after interaction with 60 Hz electric field of amplitude 2 mV and 4 mV.

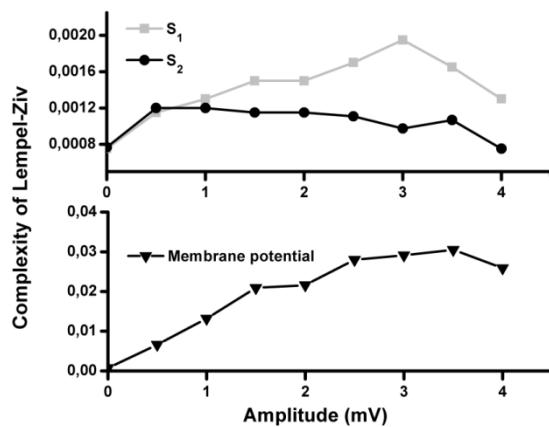


Fig 7. Complexity of Lempel-Ziv (CLZ) of membrane potential (mV) and gating particles S_1 and S_2 in β -pancreatic cells after interaction with 60 Hz electric field of amplitudes from 0.5 mV to 4 mV.