



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0611351-6 A2**

(22) Data de Depósito: 07/06/2006
(43) Data da Publicação: 07/12/2010
(RPI 2083)



(51) *Int.Cl.:*
A61N 1/00
A61B 18/00

(54) Título: **MÉTODO PARA AUMENTAR A LIPÓLISE EM UMA CÉLULA DE UM INDIVÍDUO, USO DE UMA CORRENTE ELÉTRICA PARA AUMENTAR A LIPÓLISE EM UMA CÉLULA, E, KIT**

(30) Prioridade Unionista: 07/06/2005 US 60/687,872

(73) Titular(es): TRANSFERT PLUS S.E.C.

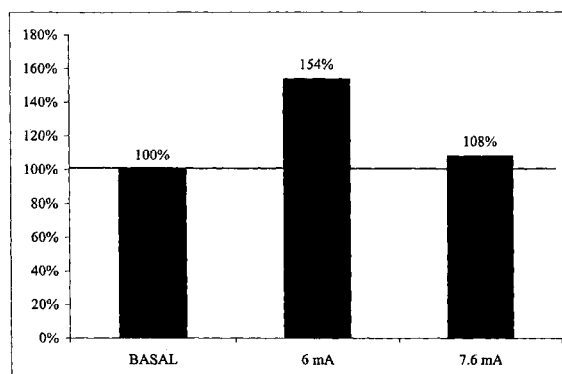
(72) Inventor(es): Jean P. Boucher, Michel Portmann, Roland Savard, Zied Haj Hamida

(74) Procurador(es): Momsen, Leonardos & CIA.

(86) Pedido Internacional: PCT CA2006000938 de 07/06/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2006/130979 de 14/12/2006

(57) Resumo: MÉTODO PARA AUMENTAR A LIPÓLISE EM UMA CÉLULA DE UM INDIVÍDUO, USO DE UMA CORRENTE ELÉTRICA PARA AUMENTAR A LIPÓLISE EM UMA CÉLULA, E, KIT. São descritos aqui métodos de aumentar a lipólise em uma célula. Tais métodos compreendem a aplicação de uma corrente elétrica em uma célula. Em uma forma de realização, a aplicação da corrente elétrica não altera substancialmente a viabilidade de tal célula e/ou preserva a viabilidade de tal célula. Em uma forma de realização, tal célula é um adipócito. Usos e embalagens correspondentes são também descritos.



“MÉTODO PARA AUMENTAR A LIPÓLISE EM UMA CÉLULA DE UM INDIVÍDUO, USO DE UMA CORRENTE ELÉTRICA PARA AUMENTAR A LIPÓLISE EM UMA CÉLULA, E, KIT”

CAMPO TÉCNICO

5 O presente pedido refere-se a métodos para aumentar a lipólise em células, especialmente lipólise associada com adipócito. Tais métodos podem compreender a aplicação de uma corrente elétrica nas células. A aplicação de tal corrente aumenta a lipólise nas células, enquanto substancialmente preservando a viabilidade celular.

10 FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

As mulheres, bem como um número crescente de homens, são obcecados por sua aparência e procuram novas alternativas para melhorar sua imagem corporal. Contudo, a remoção eficaz, cirúrgica da gordura é dispendiosa e pode também ser arriscada. Como tal, vários métodos menos
15 intrusivos foram projetados e são usados para reduzir a quantidade e aparência da gordura.

Um destes métodos é eletrolipólise, em que estimulação elétrica é dito causar a redução da quantidade ou aparência da gordura. Tal tecnologia é descrita em várias publicações (tais como Patentes U.S. Nos.
20 5.913.836 (emitida em 22 de junho de 1999), 5.425.752 (emitida em 20 de junho de 1995), 5.810.762 (emitida em 22 de setembro de 1998), 6.326.177 (emitida em 4 de dezembro de 2001), 6.697.670 (emitida em 4 de fevereiro de 2004, pedidos de patente U.S. No. 2002/0138117 (publicado em 26 de setembro de 2002), 2002/0193831 (publicado em 19 de dezembro de 2002) e
25 publicação de pedido de patente internacional No. WO/1995/029732 (publicado em 9 de novembro de 1995)). Estas técnicas usualmente envolvem a redução do número de adipócitos, na maior parte pela indução da morte celular, que pode produzir uma resposta inflamatória e, no longo termo, aumentar o número de células adiposas como uma reação de repercussão

direta.

Outra classe de métodos para reduzir a aparência da gordura consiste em modular a atividade dos receptores específicos de células contendo lipídeo para ativar a lipólise nestas células, pela diminuição da liponeogênese ou aumento da lipólise. Um receptor implicado em mediar os efeitos liponeogênicos/lipolíticos é o receptor da sulfoniluréia-1 (SUR 1). Este receptor, descrito na Patente U.S. No. 6.492.130 (emitida em 10 de dezembro de 2002), é expresso por adipócitos e ativa os canais de potássio.

Outro receptor implicado na lipólise é o receptor β -adrenérgico. Os receptores β -adrenérgicos acoplados, sinalizando caminhos, são estimulados pelos hormônios naturais, tais como noradrenalina e adrenalina. Na ativação destes receptores, a subunidade α_s da proteína G_s , normalmente acoplada aos receptores, dissocia-se e ativa a adenilato ciclase da membrana, o que transforma o ATP em AMP cíclico (cAMP). Conseqüentemente, o cAMP intracelular acumula-se e ativa a proteína cinase A (PKA). A PKA então fosforila e ativa a lipase sensível a hormônio, que rapidamente resulta na ativação de uma cascata lipolítica e na liberação de ácidos graxos livres e glicerol.

As vias de transdução de sinal associadas com os receptores β -adrenérgicos são rapidamente ativados no quando estimulados e induzem modificações intracelulares drásticas. A atividade destes receptores é assim firmemente regulada. Trinta minutos em seguida a sua ativação, os receptores β -adrenérgicos são fosforilados por várias cinases celulares (tais como PKA, proteína cinase C ou PKC e a cinase do receptor β -adrenérgico ou β -ARK), o que diminui a atividade dos receptores e finalmente resulta, duas horas depois, na dessensibilização (p. ex., irresponsividade) dos receptores. Além disso, quando os receptores são estimulados durante um longo período de tempo, os receptores são internalizados e degradados, o que finalmente reduz o número total de receptores e ainda aumenta o fenômeno da

dessensibilização. Como tal, estes receptores β -adrenérgicos não são mais capazes de estimular a lipólise nos adipócitos (fenômenos de “dessensibilização”).

5 Este fenómeno de “dessensibilização” é frequentemente observado em indivíduos obesos ou em indivíduos tendo excessiva deposição de gordura andróide ou ginóide. Conseqüentemente, nestes indivíduos, a estimulação dos receptores β -adrenérgicos não resulta em lipólise e redução de gordura.

10 Seria altamente desejável sermos providos de métodos para aumentar a lipólise em um indivíduo. Em uma forma de realização, tais métodos não deveriam envolver o receptor β -adrenérgico ou suas vias de sinalização associadas e/ou causar a dessensibilização de tais receptores. Em outra forma de realização, tais métodos devem limitar a morte celular e/ou preservar a viabilidade celular.

15 SUMÁRIO DA INVENÇÃO

De acordo com a presente invenção, é provido um método para aumentar a lipólise em uma célula de um indivíduo, dito método compreendendo aplicar uma corrente elétrica a dita célula, em que dita célula permanece substancialmente viável em seguida a dita aplicação.

20 Ainda de acordo com a presente invenção, é provido o uso de uma corrente elétrica para aumentar a lipólise em uma célula, em que dita corrente elétrica substancialmente preserva a viabilidade de dita célula.

Ainda de acordo com a presente invenção, é provida uma embalagem compreendendo: meios para aplicar uma corrente elétrica; e
25 instruções para utilizar ditos meios no aumento da lipólise em uma célula; em que dita corrente elétrica substancialmente preserva a viabilidade de dita célula.

Em outra forma de realização da presente invenção, dita corrente elétrica é bifásica ou monofásica.

De acordo com a presente invenção, dita corrente elétrica no nível celular é de cerca de 2 mA a cerca de 6 mA, mais preferivelmente de cerca de 4 mA.

5 Em outra forma de realização, dita corrente elétrica provoca uma despolarização da membrana de dita célula. Além disso, a despolarização provoca uma alteração da atividade de um canal de íons em dita célula.

De acordo com a presente invenção, dita despolarização provoca uma diminuição da atividade de um canal de íon em dita célula. O canal de íon é preferivelmente um da família de canais de íons selecionada do grupo consistindo de EAG, kcnq, sk, SLO e Kv.

Além disso, o canal de íon é selecionado dentre o grupo consistindo de eag, erg, elk, KCNQ1, KCNQ2, KCNQ3, KCNQ4, KCNQ5, Kv1, Kv2, Kv3, Kv4, Kv5, Kv6, Kv7, Kv8 e Kv9.

Além disso, o canal de íons é um canal de potássio.

15 Em outra forma de realização da presente invenção, dita célula é um adipócito.

Em outra forma de realização, o indivíduo é um mamífero, mais preferivelmente um humano.

20 De acordo com a presente invenção, o adipócito é localizado em um tecido subcutâneo, um tecido adiposo visceral ou um tecido intramuscular. Além disso, o tecido subcutâneo é localizado em uma região selecionada do grupo consistindo de braço, joelho, panturrilha, abdome, coxa, nádegas e quadris.

25 De acordo com a presente invenção, o aumento da lipólise é pelo menos 1,5 vezes o nível de lipólise de uma célula de controle.

De acordo com a presente invenção, é descrito um uso da presente invenção para tratar distúrbio associado com distribuição de gordura. Mais preferivelmente, o distúrbio associado com a distribuição de gordura é selecionado do grupo consistindo de lipodistrofia e obesidade.

Em outra forma de realização, o uso da presente invenção é ainda associado com outro tratamento selecionado do grupo consistindo de um regime de exercício, uma dieta, meios estéticos/cosméticos e bebidas eletrolíticas.

5 BREVE DESCRIÇÃO DO DESENHO

A Fig. 1 ilustra um histograma das médias e desvios padrão para as várias condições testadas, em que os resultados são expressos como 10^5 M de glicerol liberado;

10 A Fig. 2 ilustra o efeito da estimulação elétrica bifásica em lipólise de adipócito em humanos;

A Fig. 3 ilustra os efeitos da estimulação elétrica monofásica na lipólise de adipócito em humanos; e

A Fig. 4 ilustra um curso de tempo das concentrações de glicerol (medidas a cada 10 min);

15 A Fig. 5 ilustra um histograma dos meios e desvios padrões das concentrações de glicerol; e

A Fig. 6 ilustra um histograma das mudanças percentuais relativas aos valores de linha de referência.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA FORMA de REALIZAÇÃO PREFERIDA

20 De acordo com a presente invenção, são providos métodos, usos e embalagens para aumentar a lipólise. Tais métodos, usos e embalagens compreendem a aplicação de uma corrente elétrica que substancialmente preserve a viabilidade.

25 Em um primeiro aspecto, a presente invenção fornece um método de aumentar a lipólise em uma célula. O termo “lipólise” pretende significar a hidrólise de lipídeos. Mais especificamente, o termo “lipólise” de célula adiposa é também usado para abranger a hidrólise de triglicerídeos intracelulares e a liberação de ácidos graxos livres e glicerol das células. A lipólise usualmente ocorre intracelularmente em células contendo uma

gotícula de lipídeo. A lipólise pode ser medida por várias maneiras para aqueles hábeis na arte, tais como a avaliação da liberação de ácidos graxos livres e da liberação de glicerol (reporte-se aos Exemplos abaixo) por bioluminescência etc. A avaliação da liberação de glicerol das células é uma
5 melhor maneira de medir a lipólise, uma vez que o glicerol não pode repenetrar nas células adiposas quando liberado, enquanto os ácidos graxos livres podem.

O método compreende aplicar uma corrente elétrica à célula. Em uma forma de realização, dita célula permanece substancialmente viável
10 em seguida à aplicação da corrente. Como aqui usado, o termo “viável” ou “viabilidade” significa a capacidade de uma célula realizar suas funções pretendidas. As funções das células podem variar de acordo com o tipo de célula. As funções celulares podem incluir, por exemplo, divisão celular, translação, transcrição, montagem e maturação da proteína, secreção da
15 proteína, armazenagem de compostos (p. ex., proteínas, lipídeos etc.), responsividade a estímulos externos, migração etc. Um método em que uma célula permanece “substancialmente viável” em seguida à aplicação da corrente elétrica é um que não altera irreversivelmente a capacidade das células de realizar sua função. Alternativamente, quando aplicado a uma
20 população de células, tal método não induz a morte celular (por apoptose ou lise) na maioria das células, nem causa uma alteração nas funções da maioria das células. Em uma forma de realização, a aplicação da corrente elétrica preserva a viabilidade de mais do que 50% das células, mais do que 60% das células, mais do que 70% das células, mais do que 80% das células, mais do
25 que 90% das células, mais do que 95% das células ou mais do que 99% das células. Na presente invenção, a viabilidade das células adiposas refere-se a sua capacidade de ativar a lipólise pelos receptores β -adrenérgicos e por grau não-significativo de lise celular.

Como mencionado acima, a corrente elétrica deve ser

adequada para administração ou aplicação no nível fisiológico. A corrente elétrica pode ser medida em ampéres (A) ou miliampéres (mA). A intensidade da corrente elétrica pode ser medida de diferentes maneiras, empregando-se vários meios conhecidos por aqueles hábeis na arte. Em uma forma de realização, a intensidade da corrente elétrica é medida usando-se um amperímetro (reporte-se aos Exemplos acima) ou com um osciloscópio. Em uma forma de realização, a corrente elétrica aplicada é menor do que 8 mA e, em uma outra forma de realização, menos do que 7 mA. Por exemplo, a corrente elétrica pode ser de cerca de 2 mA a cerca de 6 mA. Em ainda outra forma de realização, a corrente elétrica pode ser de 4 mA. A corrente elétrica acima é uma “sentida” no nível da célula. Uma pessoa hábil na arte terá que ajustar este valor em função do indivíduo a ser tratado, da percentagem de gordura e/ou músculo da área a ser tratada em um indivíduo. Este valor também variará de acordo com a impedância da pele. Uma pessoa hábil na arte prontamente saberá como medir a corrente elétrica “sentida” no nível da célula, isto é, a corrente que alcança a célula e a que a célula é submetida.

Em uma forma de realização, a corrente elétrica aplicada pode despolarizar a membrana da célula. As células vivas mantêm uma diferença nas concentrações de íons (p. ex., cátions) através de sua membrana celular. Esta diferença em distribuição de íons em um ou outro lado das membrana celular possibilita a formação de uma diferença de potencial através da membrana celular (p. ex., o potencial da membrana). Usualmente, em células em repouso, o espaço intracelular contém eletrólitos mais negativos (p. ex., ânions) ou íons menos positivos (cátions) do que o ambiente extracelular. Nos métodos descritos aqui, a aplicação da corrente elétrica pode alterar (p. ex., diminuir) a diferença de potencial entre ambos os lados da membrana celular e, conseqüentemente, alterar (p. ex., diminuir) o potencial da membrana.

A voltagem ou potencial da membrana origina-se de diferenças na concentração dos eletrólitos (p. ex., íons) através da membrana

celular. A fim de obter-se esta diferença de concentração iônica, estas células usualmente contêm canais de íons e bombas de íons. A expressão “canal de íons” significa um polipeptídeo atravessando a membrana, capaz de controlar o movimento de certos íons através da membrana. Tal canal possibilita a formação de um gradiente de íons em qualquer dos dois lados da membrana celular e, conseqüentemente, possibilita a polarização da membrana celular. Em outra forma de realização, a despolarização causada pela corrente elétrica pode alterar (p. ex., diminuir) a atividade de tal canal de íons na célula.

Em algumas células, é a diferença na concentração de eletrólitos (ou íons) de potássio (K^+) e sódio (Na^+) que possibilita a formação de um potencial da membrana. Como tal, em uma forma de realização, o canal de íons descrito acima é um canal de potássio. Em ainda outra forma de realização, o canal de potássio pode compreender uma das seqüências polipeptídicas. Em uma maneira mais geral, na presente invenção a corrente elétrica pode interferir com os canais de íon para abrir tal canal ou fechá-lo, para criar um potencial de membrana originando-se de diferenças de concentração dos eletrólitos (p. ex., íons) através da membrana celular. Os canais de íons que podem ser afetados na presente invenção são, por exemplo, mas sem limitação, aqueles das famílias EAG (eag, erg, e elk), KCNQ (KCNQ1, KCNQ2, KCNQ3, CKNQ4 E KCNO5), SK, slo e KV ($Kv1$, $Kv2$, $Kv3$, $Kv4$, $Kv5$, $Kv6$, $Kv7$, $Kv8$ e $Kv9$). Todos estas famílias de canais de íons e seus membros específicos são conhecidos daqueles hábeis na arte.

Ramirez-Ponce et al. demonstraram a presença de canais de potássio ativados por voltagem em rato (1990, “Electrical activity in white adipose tissue of rat”, Rev. Esp. Fisiol. 46(2): 133 – 188; 1991 “Effects of noradrenaline and insulin on electrical activity in white adipose tissue of rat”, Rev. Esp. Fisiol. 47: 217 – 21; 1996, “Voltagem-Dependent Potassium Channels in White Adipocytes”, Biochemic and Biophysical Research Communications; e 1998, “Noradrenaline modulates the electrical activity of

white adipocytes by a cAMP-dependent mechanism”, J. Endocrinol) e membranas adipócitas brancas humanas (2003, “Human Adipose Cells Have Voltage-dependent Potassium Currentes”, J. Membrana Biol. 196: 129 – 134). Eles mostraram que os hormônios lipolíticos (p. ex., noradrenalina) e não-lipolíticos (p. ex., insulina) modulam as propriedades das membranas adipócitas brancas. Mais especificamente, eles mostraram que a noradrenalina provoca a despolarização da membrana adipócita, enquanto que a insulina provoca uma hiperpolarização. Eles sugeriram que, quando os adipócitos são estimulados com noradrenalina, o acúmulo resultante do cAMP intracelular modula (p. ex., bloqueia) a condutância dos canais de potássio. O efeito do cAMP sobre os canais de potássio ativados por voltagem tem também sido investigado em outros tipos de célula (Bruggmann et al. 1993, “Ether-a-go-go encodes a voltagem-gated channel permeable to K^+ e Ca^{2+} and modulated by cAMP”, Nature 365: 445-448; Chung e Kaczmarek 1995, “Modulation of the inactivation of voltagem-dependent potassium channels por cAMP”, J. Neurosci. 15: 3927 – 3935; Deadwyler et al. 1995, “Cannabinoids modulate voltage sensitive potassium A-current em hippocampal neurons via a cAMP-dependent process”, Pharmacol. Exp. Ther. 273(2): 734-743; Wilson et al. 2000, “ATP e beta adrenergic stimulation enhance voltagem-gated K current inactivation in brown adipocytes”, Am. J. Physiol. 279: C1847 – C1858).

Várias células podem ser usadas nos métodos descritos acima. Tais células incluem mas não são limitadas a adipócitos. O termo “adipócito” significa uma célula cuja função mais conhecida é o armazenamento e decomposição de gordura. Os adipócitos usualmente tingem positivamente com Oil-Red-O (que mostra o acúmulo intracelular de lipídeos) e expressam a lipoproteína lipase, bem como a glicerol 3-fosfato desidrogenase. Há dois tipos de adipócitos: adipócitos brancos e marrons. Os adipócitos brancos contêm na maior parte uma grande gotícula de lipídeo, enquanto que os adipócitos marrons contêm principalmente diversas pequenas gotículas de

lipídeos e muitas mitocôndrias. A função celular dos adipócitos marrons é a produção de energia térmica. A menos que de outro modo especificado e como usado aqui, o termo “adipócito” é usado para indicar adipócitos brancos.

5 Em ainda outra forma de realização, o adipócito pode ser localizado em vários tecidos. Os métodos podem ser aplicados em cada local em que os adipócitos estão presentes. Os adipócitos podem ser localizados no braço (p. ex., face lateral ou posterior, abdome (p. ex., acima e abaixo do umbigo), nos quadris, na coxa (p. ex., face externa, posterior ou interna), em
10 torno da área do joelho (p. ex., acima da face interna da área do joelho), panturrilhas (p. ex., face posterior, nádegas.

 Os métodos descritos aqui podem ser usados em tecido adiposo que pode ser submetido a uma corrente elétrica. Tais tecidos incluem mas não são limitados a tecidos adiposos subcutâneos, tecidos adiposos
15 viscerais e tecidos intramusculares.

 Os métodos descritos aqui podem ser usados para aumentar a lipólise em uma célula por pelo menos 1,5 vezes com respeito a uma célula de controle. A célula de controle, como aqui descrito, é uma célula que não foi submetida a corrente elétrica, tal como a célula de controle descrita nos
20 Exemplos abaixo. A célula de controle não foi submetida a quaisquer tratamentos que altere seu nível lipolítico. A célula de controle pode ser derivada do mesmo indivíduo que a célula submetida a corrente elétrica.

 Em outra forma de realização, os métodos aqui descritos podem ser usados para remover gordura em cada área específica, p.ex., nos
25 tecidos contendo uma quantidade de gordura que pode ser removida por razões estéticas/cosméticas ou terapêuticas. A deposição de gordura nos homens é usualmente observada na região abdominal (p. ex., gordura andróide), enquanto que em mulheres é usualmente observada nos quadris, coxa e nádegas (p. ex., gordura ginóide). A gordura andróide é usualmente

associada com um risco mais elevado de complicações cardiovasculares. Embora a gordura andróide seja geralmente vista em homens e a gordura ginóide em mulheres, o padrão de deposição de gordura não é unicamente determinado pelo sexo. Algumas mulheres, por exemplo, durante ou após a menopausa, mudem de um padrão de deposição de gordura ginóide para um padrão de deposição de gordura andróide. Os métodos aqui descritos podem também servir no tratamento de outros distúrbios associados com a distribuição de gordura, tais como lipodistrofia e obesidade. Os métodos descritos aqui podem ser usados para acelerar o retorno a uma condição de gordura normal em seguida a uma ou muitas gravidezes, para parar ou diminuir o efeito anti-lipolítico da insulina em indivíduo sofrendo do tipo de diabetes II, ou para favorecer o uso de lipídeos durante uma sessão de treinamento.

Os métodos descritos aqui podem ser usados sozinhos ou em combinação com outras técnicas conhecidas para aumentar a lipólise. Por exemplo, os métodos podem ser usados em combinação com medicamentos para induzir a lipólise, tais como agonistas de receptor β -adrenérgico, ou outros medicamentos tais como metilxantinas (caféina ou teofilina) ou suplementos estrogênicos. Os métodos poderiam também ser usados em associação com um regime de exercício com o objetivo de diminuir a percentagem de gordura. Tal regime de exercício pode incluir mas não é limitado a treinamento cardiovascular e treinamento de peso (p. ex., construir massa muscular e/ou melhorar resistência muscular). Os métodos poderiam também ser usados em associação com uma dieta com o objetivo de baixar a percentagem de gordura e/ou peso total (p. ex., uma dieta de baixo carboidrato, uma dieta de baixa gordura). Os métodos poderiam também ser usados em associação com outros meios estéticos/cosméticos com o objetivo de reduzir a aparência da gordura (p. ex., creme anti-celulite, drenagem linfática etc). Os métodos poderiam ser ainda usados em associação com

bebidas eletrolíticas (tais como Gatoraid™, Ultimate replenisher™, etc.) que modificariam o teor de eletrólito de um tecido, assim modulando o efeito dos métodos da presente invenção. Os métodos da presente invenção poderiam também ser seguidos com um programa de exercício a que um paciente
5 aderiria para melhorar o metabolismo, livrando-se da gordura assim liberada pelo método da presente invenção.

A corrente elétrica descrita aqui pode também ser usada para aumentar a lipólise em uma célula. Diferentes formas de realização da corrente elétrica foram descritas acima. A corrente elétrica usada aqui pode
10 também preservar a viabilidade de uma célula. A corrente elétrica pode ser aplicada, por exemplo, em adipócitos ou em áreas contendo tecidos adiposos (diferentes formas de realização dos adipócitos e dos tecidos adiposos foram descritas acima). A corrente elétrica pode também ser adequada para ser aplicada a um mamífero e ainda a um humano.

15 A presente invenção também compreende embalagens compreendendo meios para aplicar a corrente elétrica e instruções para seu uso no aumento da lipólise. Diferentes formas de realização das correntes elétricas e dos usos foram descritas acima.

20 A presente invenção será mais prontamente entendida por referência aos seguintes exemplos, que são dados para ilustrar a invenção em vez de limitar seu escopo.

EXEMPLO I

Preparação de adipócito para estímulo e medição da lipólise

Material e Métodos

25 *Amostras de tecidos.* Tecidos adiposos foram obtidos de 11 mulheres pré-menopausadas, com a idade sob 45, que estavam sofrendo lipossucção ou uma cirurgia estética na região supra-iliaca.

Isolamento do adipócito. Os tecidos adiposos foram primeiro colocados em tampão de Krebs e transportados para o laboratório.

Fragmentos de tecido adiposo fresco foram então incubados em uma solução tipo II de collagenase (reconstituída em tampão Krebs, 5 mg de collagenase por grama de tecido; Sigma) por 30 minutos a 37°C sob agitação (100 rpm) em uma atmosfera controlada (95% O₂, 5% CO₂) (Rodbell, 1964). Após o período de incubação, a suspensão celular foi filtrada através de uma malha de náilon de 250 µm e separada da fração estromal e vascular por flotação. Os adipócitos recuperados foram então lavados três vezes com 5 ml de tampão Krebs (pré-aquecido a 37°C, sem collagenase) para remover qualquer traço da collagenase. Para a última lavagem, a concentração de adipócitos foi ajustada a 500 células/5 µl. Os adipócitos foram contados utilizando-se um hemacitômetro Neubauer utilizando-se corante azul tripano. Somente os adipócitos contendo uma definida gotícula de lipídeo foram considerados para fins apresentados aqui. A concentração celular foi então ajustada entre 500 e 1000 adipócitos/50 µl. A técnica de isolamento de adipócitos descrita aqui possibilita o estudo da estrutura celular, íon celular e transferência de alimento e a regulação hormonal da lipólise.

Estimulação Elétrica. A suspensão de células foi colocada entre dois elétrodos de borracha de carbono. Os elétrodos têm a largura de 4,7 e 1,4 cm de largura. Eles foram colocados 8 cm separados em uma placa de Petri. Os elétrodos foram projetados de modo que, quando a placa de Petri fosse fechada, eles contatassem o fundo da cápsula.

Um gerador de energia (tal como K0406, 0-30 Vdc, 50 mA, ou Grass S80, adaptado para seguir em tempo real a variação de corrente e impedância, a fim de ser capaz de preferivelmente manter a corrente constante no nível da célula), foi usado para rigorosamente controlar a corrente. Em todas as experimentações realizadas, impulsos de onda quadrada, durando 500 ms, seguidos por um período não-estimulatório de 500 ms (correspondendo a uma frequência de 1 Hz), foram usados. A intensidade da corrente foi de 4, 8 ou 20 mA. A intensidade da corrente foi rigorosamente monitorada com um

amperímetro (tal como FLUKE 179) no lado do ânodo. Os impulsos foram monitorados com um osciloscópio (Tektronix™ TDS 2022, osciloscópio de armazenagem digital, USA).

5 As células foram eletricamente estimuladas por 30 minutos em um banho de água agitada (40 rpm) a 37°C. As células não submetidas à corrente elétrica foram usadas como células de controle (p. ex., BASAL) ou estimuladas com isoproterenol (SIGMA: ISO, 10^{-4} M).

10 A resistência ao longo de um eletrodo de certa forma varia entre 30 e 60 ohms. A resistência da solução é estimada a cerca de 10 ohms. Esta diferença de resistências possibilita a formação de um campo elétrico que cobre a inteira superfície da placa de Petri. Em razão de a resistência da solução ser menor do que a resistência dos eletrodos e em razão de a solução ser agitada durante o inteiro período de estimulação, pensa-se que os adipócitos sejam uniformemente estimulados.

15 *Avaliação da lipólise.* Em razão de os ácidos graxos livres poderem ser reesterificados dentro do adipócito, enquanto o glicerol não, a lipólise foi avaliada medindo-se a liberação do glicerol. O glicerol foi indiretamente medido avaliando-se a formação de NADH produzido durante sua transformação enzimática. O NADH foi medido usando-se um
20 espectrofotômetro (Pharmacia LKB-Novaspec) em um comprimento de onda de 340 nm. Os resultados são expostos como μmol de glicerol liberado por 10^6 adipócitos por 30 minutos.

Avaliação da viabilidade celular. A viabilidade celular foi avaliada contando-se as células viáveis usando-se um hematocitômetro
25 Neubauer e o corante azul tripano. A viabilidade celular foi avaliada antes da estimulação elétrica (0 min.) e após estimulação elétrica (30 min, 60 min ou 90 min).

Análise estatística. Os experimentos foram realizados em triplicata. As células obteníveis de onze (11) indivíduos foram usadas para o

controle (BASAL), estimulação de isoproterenol (ISO) e condições de 4 mA. Células de quatro (4) indivíduos foram usadas para a condição de 8 mA e de sete (7) indivíduos para a condição de 20 mA. O média e desvio padrão foram calculados.

5 EXEMPLO II

Lipólise de adipócito obtida em seguida à estimulação elétrica

Resultados

Os adipócitos foram isolados e eletricamente estimulados como descrito no Exemplo 1. A Tabela 1 resume os resultados obtidos.

10

Tabela 1

Análise estatística dos dados obtidos (μM de glicerol)

Condição experimental	BASAL	ISO	4 mA	8 mA	20 mA
Média	1,4	3,7	2,3	2,1	1,4
Desvio padrão	0,4	2,1	0,8	0,9	0,7
Coeficiente de variação	29%	57%	34%	41%	53%
N	11	11	11	4	7

15

Os resultados apresentados aqui mostram que a lipólise do adipócito foi aumentada 2,6 vezes quando os adipócitos foram estimulados com isoproterenol, em comparação com os valores de controle (BASAL, p. ex., nenhum tratamento). Em uma concentração de 10^{-4} M, o isoproterenol é sabido estimular os receptores β -adrenérgicos, estimular a lipólise e facilitar a liberação de glicerol.

20

25

Como mostrado na Fig. 1, uma estimulação elétrica com uma corrente de 4 mA aumentou a lipólise dos adipócitos 1,6 vezes acima dos valores basais ($p < 0,001$). A lipólise medida para a condição de isoproterenol (ISO) é significativamente mais elevada do que a lipólise medida para a condição de controle (BASAL). A lipólise medida para a condição 4 mA é significativamente mais elevada do que a lipólise medida para a condição de controle (BASAL), porém não é significativamente diferente da lipólise medida para a condição de isoproterenol (ISO). A estimulação da lipólise induzida pela corrente de 4 mA não é estatisticamente diferente da induzida pela administração de isoproterenol.

EXEMPLO III

Lipólise de adipócitos obtida em seguida à estimulação elétrica bifásica

Foi testado se a estimulação elétrica bifásica pode induzir lipólise nos adipócitos.

5 4 mulheres entre a idade de 40 – 52 anos foram usadas como indivíduos. O tecido adiposo foi obtido de áreas supra-ilíacas através de lipossucção.

 É descrito que o isoproterenol (ISO) aumentou a lipólise de adipócitos em 15%, isto é, em um nível não significativo (Fig. 2). Estes dados
10 são muito importantes, uma vez que claramente mostram que as 4 mulheres são resistentes a gordura solta através da estimulação do receptor β -adrenérgico, que é conhecida como o principal caminho de estimulação da lipólise de adipócitos. Por outro lado, a estimulação bifásica de 6 mA significativamente (através de procedimentos de teste T repetidos) aumentou
15 a lipólise em 2,3 vezes em relação à basal, assim neutralizando a resistência β -adrenérgica dos adipócitos, observada com ISO. Além disso, o estímulo bifásico de 4 mA aumentou a lipólise basal em 1,8x, assim em um nível inferior do que o da estimulação de 6 mA.

 Estes dados confirmam que uma estimulação elétrica bifásica
20 pode produzir com sucesso a perdas de gordura no tecido adiposo.

EXEMPLO IV

Lipólise de adipócito obtida em seguida à estimulação elétrica monofásica

Em correlação com a presente invenção, a estimulação monofásica na lipólise de adipócitos em humanos foi também media.

25 É revelado que estimulações de 2 mA e 6 mA monofásicas aumentaram a lipólise basal em menos do que 15% (Fig. 3). Este nível de estimulação não aparece significativamente através de procedimentos de teste T repetidos.

 Estes dados confirmam que, no caso de estimulações

monofásicas, uma corrente entre 2 mA e 6 mA e, preferivelmente, 4 mA, teve um sucesso significativo no aumento da lipólise de adipócito.

EXEMPLO V

Viabilidade celular em seguida a estimulação elétrica de adipócito

5 A viabilidade celular foi determinada usando-se duas maneiras: primeira através de corante azul tripiano, que consiste de contar somente células que estão mostrando sua membrana colorida por tripiano azul, enquanto as células com seu colorido citosol foram consideradas como não viáveis; segunda, as células foram estimuladas por ISO após
10 terem sido eletricamente estimuladas por 30 min. Assim, se a estimulação elétrica afetasse o metabolismo das células, sua resposta a ISO seria diminuída.

Para o estudo monofásico, a estimulação de 2 mA e 4 mA não tiveram nenhum efeito sobre a contagem celular e a estimulação ISO da
15 lipólise foi normal. Entretanto, a estimulação de 6 mA mostrou uma pequena diminuição das contagens celulares, porém a estimulação ISO foi também normal.

Em seguida à estimulação bifásica, as estimulações de 4 mA e 6 mA não tiveram efeito sobre a contagem celular e a estimulação ISO da
20 lipólise de adipócito foi normal.

Os dados apóiam o fato de que as estimulações monofásicas a 2 mA e 4 mA, bem como as estimulações bifásicas a 4 mA e 6 mA não afetam a viabilidade celular.

Além disso, deve-se levar em consideração que, no presente
25 estudo, as células foram isoladas do tecido humano e, assim, muitíssimo mais frágeis do que *in situ*. É assim razoável considerar para uma pessoa hábil na arte que a presente estimulação elétrica (monofásica 2 mA e 4 mA; bifásica 4 mA e 6 mA) não tem efeito sobre a viabilidade das células, se aplicada *in vivo*.

EXEMPLO VI

Fluxo de corrente atravessante

Em correlação com a presente invenção, um pré-teste de medir a eficácia da corrente fluindo através da pele foi avaliado. Estimulação elétrica transcutânea muscular foi conduzida. O objetivo foi avaliar a perda de amplitude da corrente fluindo através da pele. Além disso, a medição da intensidade de perda de corrente, devida à resistência da pele, foi também avaliada.

Uma corrente de 4 mA com uma corrente monofásica de 500 ms foi usada. Nenhuma dor foi observada no paciente, assim a corrente não é estimuladora das fibras nervosas, responsáveis pela sensação de dor. Foi também observado que uma aplicação de uma corrente de 4 mA resulta em contração muscular, assim recrutamento de fibras motoras. Conseqüentemente, uma pessoa hábil na arte reconheceria que uma grande maioria da corrente escoou através da barreira cutânea e dos adipócitos, a fim de alcançar as fibras musculares e produzir uma contração muscular. Pelo menos 3,8 mA dos 4 mA fluíram através da pele eficientemente. Conseqüentemente, 95% da estimulação de corrente aplicada fluiu através da barreira cutânea. Além disso, a onda de estimulação quadrada não foi afetada, uma vez que os alfa-motoneurônios foram estimulados. Os alfa-motoneurônios são despolarizados eficientemente pela onda de estimulação quadrada. Observação no osciloscópio mostrou que somente uma suave deformação da onda foi observada. Uma pequena curvatura da onda foi observada, que é associada com a capacitância da pele.

Estes dados demonstram que 95% da estimulação de corrente aplicada fluíram através da barreira cutânea e que a onda de estimulação pode ser considerada como uma onda quadrada fisiologicamente.

EXEMPLO VII

Microdiálise *in vivo*

Em correlação com a presente invenção, a microdiálise *in vivo*

foi testada. A microdiálise é uma técnica que permite estimular o tecido adiposo *in vivo*.

Em resumo, uma é necessário implantar uma sonda dentro dos tecidos adiposos, que será locada dentro do espaço intersticial, onde um equilíbrio será alcançado entre o fluido intersticial e a solução fisiológica circulando dentro da sonda. Quando este equilíbrio for alcançado, a sonda pode capturar moléculas liberadas das células.

Os resultados são obtidos em concentrações reais expressas em micro molar (μM) de glicerol, a fim de obterem-se medições válidas de lipólise. Três condições experimentais foram testadas: (1) BASAL (atividade de lipólise normal, sem qualquer estimulação); (2) estimulação elétrica de corrente bifásica de 6 mA; (3) estimulação elétrica de corrente bifásica de 7,6 mA.

O indivíduo usado no presente estudo foi uma mulher com a idade de 45 anos (pesando 166 libras (75 kg) e medindo 5 pés (1,72 m) e a sonda foi implantada no tecido adiposo abdominal. A estimulação bifásica de 6 mA foi aplicada por 30 min, bem como a estimulação bifásica de 7,6 mA. É primeiro importante citar que foi observado que o campo elétrico estava atravessando a parede de pele e estava alcançando o tecido adiposo. Os resultados obtidos confirmam esta afirmação.

A Tabela 2 e Fig. 4 descreve um curso de tempo de concentrações de glicerol medido durante o experimento (medições a cada 10 minutos).

Tabela 2

Curso de tempo de concentrações durante o experimento (medições cada 10 minutos)

	BASAL (30 min)			6 mA (20 min)		Basal (10 min)	7.6 mA (20 min)		Basal (10 min)
	B1	B2	B3	S1	S2	B4	S3	S4	B5
μM de glicerol	3.75	3.57	3.5	4.8	6.03	3.3	4.12	3.5	3.5

Os resultados obtidos são representados na Tabela 3 e Fig. 5.

Tabela 3

Tabela resumo apresentando as concentrações médias (μM) com os desvios padrão (S.D.) e mudanças percentuais relativas às concentrações de linha de referência médias

Concentrações em microM de glicerol

Condições	BASAL	6 mA	7.6 mA
Médias	3.52	5.42	3.81
Desv. padrão	0.16	0.87	0.44
% troca	100%	154%	108%

Estes resultados demonstram que a estimulação elétrica de 6 mA produziu lipólise significativamente estimulada em um nível de 54% mais elevado do que o valor basal normal (Fig. 6). A estimulação elétrica de 7,6 mA não produziu lipólise significativa. Estes resultados, obtidos *in vivo* em um indivíduo vivo humano, valida os resultados encontrados *in vitro*.

Estes dados demonstram a correlação entre dados *in vitro* obtidos e a capacidade da presente invenção de aumentar a lipólise das células adiposas *in vivo*.

Sem desejarmos ficar presos a qualquer teoria específica, estes resultados sugerem que a corrente elétrica aplicada às células modifica o potencial de suas membranas, provavelmente pela inativação (p. ex., fechamento) dos canais de potássio acionados por voltagem. Em retorno, a acumulação do potássio intracelular poderia ativar os caminhos lipolíticos sem ativar os receptores β -adrenérgicos.

Embora a invenção tenha sido descrita com relação a suas formas de realização específicas, deve ser entendido que é capaz de mais modificações e este pedido é destinado a cobrir quaisquer variações, usos ou adaptações da invenção, seguindo, em geral, os princípios da invenção e incluindo tais desvios da presente descrição que se situem dentro da prática conhecida ou costumeira da arte a que a invenção pertence e como possa ser aplicada aos aspectos essenciais aqui antes expostos, e como segue no escopo das reivindicações anexas.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para aumentar a lipólise em uma célula de um indivíduo, caracterizado pelo fato de compreender aplicar uma corrente elétrica a dita célula, em que dita célula permanece substancialmente viável em seguida a dita aplicação.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica ser bifásica.

3. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica ser monofásica.

4. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica no nível celular ser de cerca de 2 mA a cerca de 6 mA.

5. Método de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica ser de cerca de 4 mA.

6. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica provocar despolarização da membrana de dita célula.

7. Método de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de dita despolarização causar uma alteração da atividade de um canal de íon em dita célula.

8. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de dita despolarização causar uma diminuição da atividade de um canal de íon em dita célula.

9. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de dito canal de íon ser um de uma família de canal de íons selecionada do grupo consistindo de EAG, KCNQ, SK, slo e Kv.

10. Método de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de o canal de íons ser selecionado do grupo consistindo de eag, erg, elk, KCNQ1, KCNQ2, KCNQ3, KCNQ4, KCNQ5, Kv1, Kv2, Kv3, Kv4,

Kv5, Kv6, Kv7, Kv8 e Kv9.

11. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de dito canal de íon ser um canal de potássio.

5 12. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de dita célula ser um adipócito.

13. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de dito indivíduo ser um mamífero.

14. Método de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de dito mamífero ser um humano.

10 15. Método de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de dito adipócito ser localizado em um tecido subcutâneo, um tecido adiposo visceral ou um tecido intramuscular.

15 16. Método de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de dito tecido subcutâneo ser localizado em uma região selecionada do grupo consistindo de braço, joelho, panturrilha, abdome, coxa, nádegas e quadris.

17. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de dito aumento de lipólise ser de pelo menos 1,5 vezes com respeito ao nível de lipólise em uma célula de controle.

20 18. Uso de uma corrente elétrica para aumentar a lipólise em uma célula, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica substancialmente preservar a viabilidade de dita célula.

19. Uso de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica ser bifásica.

25 20. Uso de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica ser monofásica.

21. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 18 a 20, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica no nível celular ser de cerca de 2 mA a cerca de 6 mA.

22. Uso de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica ser de cerca de 4 mA.

23. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 18 a 22, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica causar uma despolarização da membrana de dita célula.

24. Uso de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de dita despolarização causar uma alteração na atividade de um canal de íon em dita célula.

25. Uso de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de dita despolarização causar uma diminuição da atividade de um canal de íon em dita célula.

26. Uso de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de dito canal de íon ser um de uma família de canal de íon selecionada do grupo EAG, KCNQ, SK, slo e Kv.

27. Uso de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de o canal de íon ser selecionado do grupo consistindo de eag, erg, elk, KCNQ1, KCNQ2, KCNQ3, KCNQ4, KCNQ5, Kv1, Kv2, Kv3, Kv4, Kv5, Kv6, Kv7, Kv8 e Kv9.

28. Uso de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de dito canal de íon ser um canal de potássio.

29. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 18 a 28, caracterizado pelo fato de dita célula ser um adipócito.

30. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 18 a 29, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica ser adequada para administração a um mamífero.

31. Uso de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de dito mamífero ser um humano.

32. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 18 a 31, caracterizado pelo fato de dita corrente elétrica ser adequada para

administração a um tecido subcutâneo, um tecido adiposo visceral ou um tecido intramuscular.

5 33. Uso de acordo com a reivindicação 32, caracterizado pelo fato de dito tecido subcutâneo ser localizado em uma região selecionada do grupo consistindo de braço, joelho, panturrilha, abdome, coxa, nádegas e quadris.

34. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 18 a 33, caracterizado pelo fato de dito aumento de lipólise ser pelo menos de 1,5 vezes com respeito ao nível de lipólise de uma célula de controle.

10 35. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 18 a 34, caracterizado pelo fato de ser para tratar um distúrbio associado com distribuição de gordura.

15 36. Uso de acordo com a reivindicação 35, caracterizado pelo fato de dito distúrbio associado com a distribuição de gordura ser selecionado do grupo consistindo de lipodistrofia e obesidade.

37. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 18 a 36, caracterizado pelo fato de ser ainda associado com outro tratamento selecionado do grupo consistindo de um regime de exercício, uma dieta, meios estéticos/cosméticos e bebidas eletrolíticas.

20 38. Embalagem, caracterizada pelo fato de compreender:
(i) meio para aplicar uma corrente elétrica; e
(ii) instruções para utilizar ditos meios no aumento da lipólise em uma célula;

25 em que dita corrente elétrica substancialmente preserva a viabilidade de dita célula.

39. Embalagem de acordo com a reivindicação 38, caracterizada pelo fato de ditas instruções especificarem o uso de uma corrente elétrica de cerca de 2 mA a cerca de 6 mA.

40. Embalagem de acordo com a reivindicação 39,

caracterizada pelo fato de ditas instruções especificarem o uso de uma corrente elétrica de cerca de 4 mA.

5 41. Embalagem de acordo com a reivindicação 38, caracterizada pelo fato de ditas instruções especificarem que dita corrente elétrica causa uma despolarização da membrana de dita célula.

42. Embalagem de acordo com a reivindicação 41, caracterizada pelo fato de ditas instruções especificarem que dita despolarização causa uma alteração da atividade de um canal de íon de dita célula.

10 43. Embalagem de acordo com a reivindicação 42, caracterizada pelo fato de ditas instruções especificarem que dita despolarização causa uma diminuição da atividade de um canal de íon de dita célula.

15 44. Embalagem de acordo com a reivindicação 43, caracterizada pelo fato de dito canal de íon ser um de uma família de canais selecionada do grupo consistindo de EAG, KCNQ, SK, slo e Kv.

20 45. Embalagem de acordo com a reivindicação 44, caracterizada pelo fato de o canal de íon ser selecionado do grupo consistindo de eag, erg, elk, KCNQ1, KCNQ2, KCNQ3, KCNQ4, KCNQ5, Kv1, Kv2, Kv3, Kv4, Kv5, Kv6, Kv7, Kv8 e Kv9.

46. Embalagem de acordo com a reivindicação 43, caracterizada pelo fato de dito canal de íon ser um canal de potássio.

47. Embalagem de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 46, caracterizada pelo fato de dita célula ser um adipócito.

25 48. Embalagem de acordo com a reivindicação 47, caracterizada pelo fato de ditas instruções especificarem que dito adipócito é localizado em um mamífero.

49. Embalagem de acordo com a reivindicação 48, caracterizada pelo fato de dito mamífero ser um humano.

50. Embalagem de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 49, caracterizada pelo fato de ditas instruções especificarem que dito adipócito é localizado em um tecido subcutâneo, um tecido adiposo visceral ou um tecido intramuscular.

5 51. Embalagem de acordo com a reivindicação 50, caracterizada pelo fato de dito tecido subcutâneo ser localizado em uma região selecionada do grupo consistindo de braço, joelho, panturrilha, abdome, coxa, nádegas e quadris.

10 52. Embalagem de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 51, caracterizada pelo fato de ditas instruções especificarem que o aumento da lipólise é de pelo menos 1,5 vezes com respeito ao nível de lipólise de uma célula de controle.

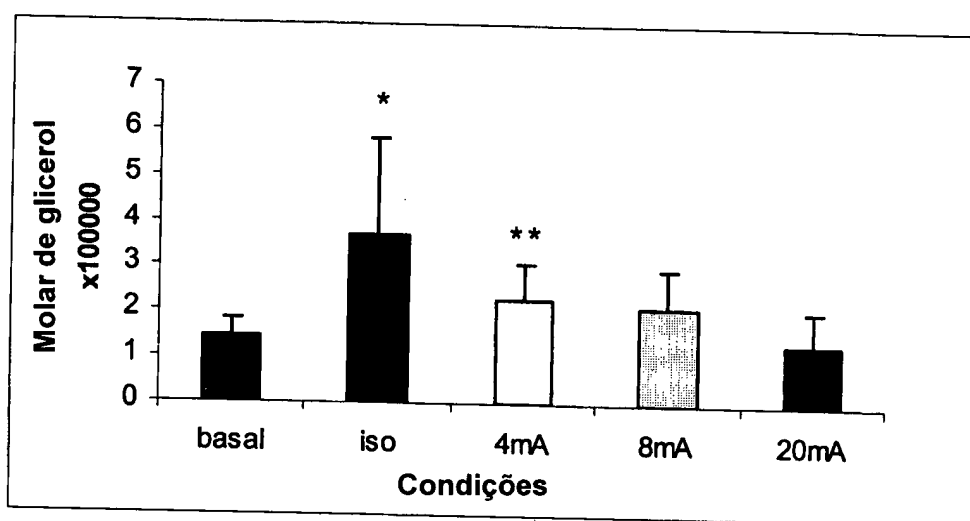


Fig. 1

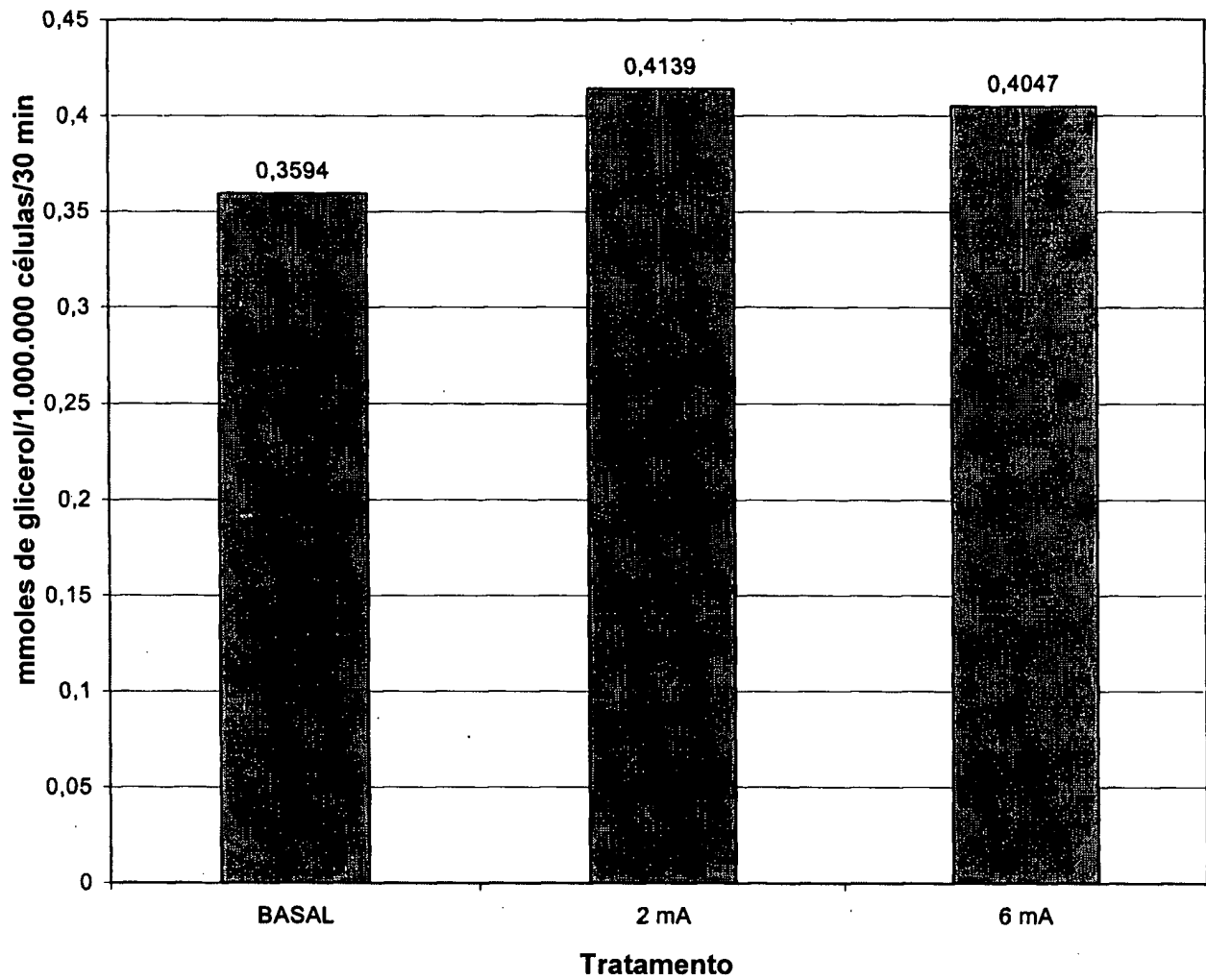


Fig. 2

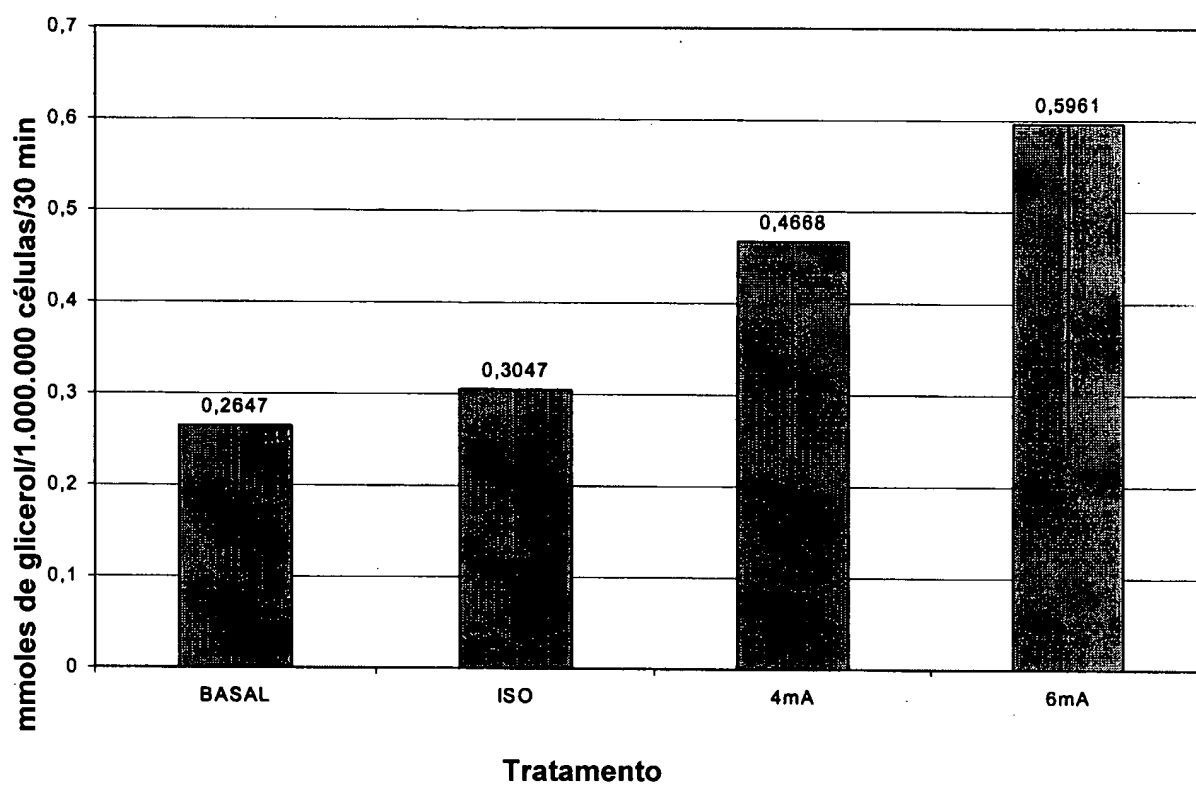


Fig. 3

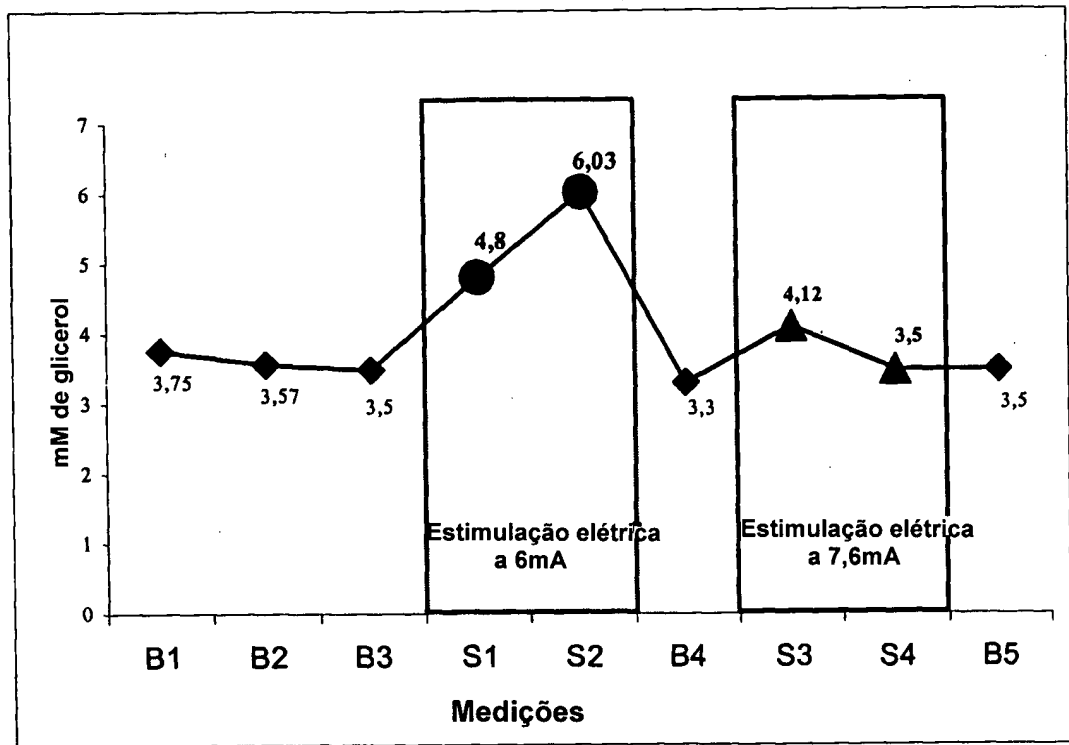


Fig. 4

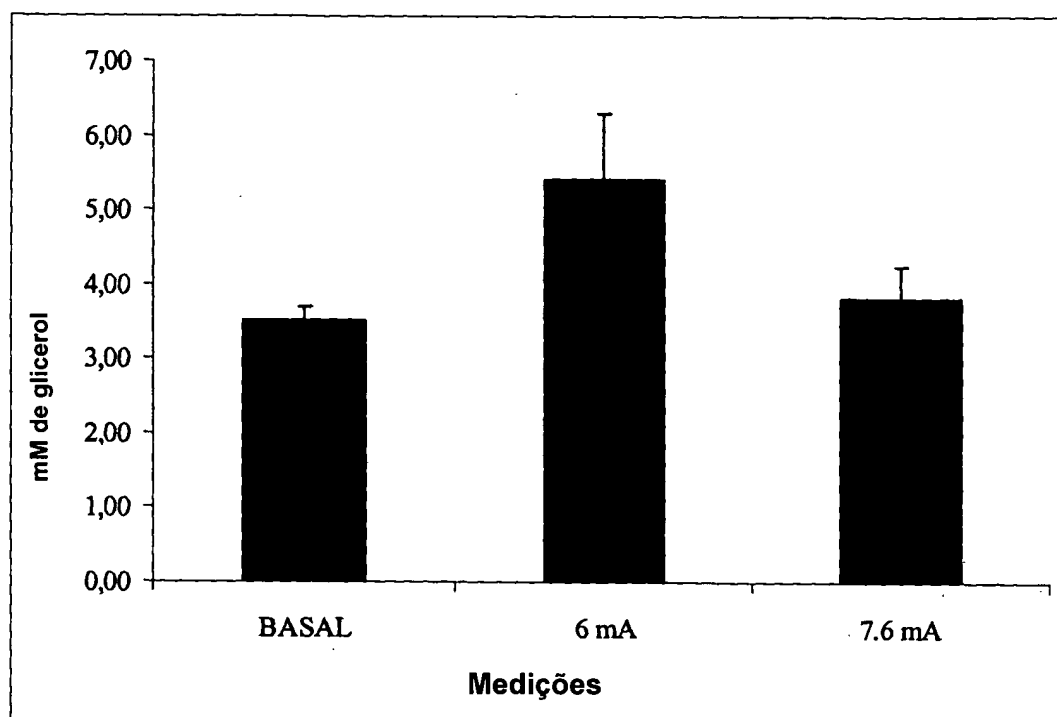


Fig. 5

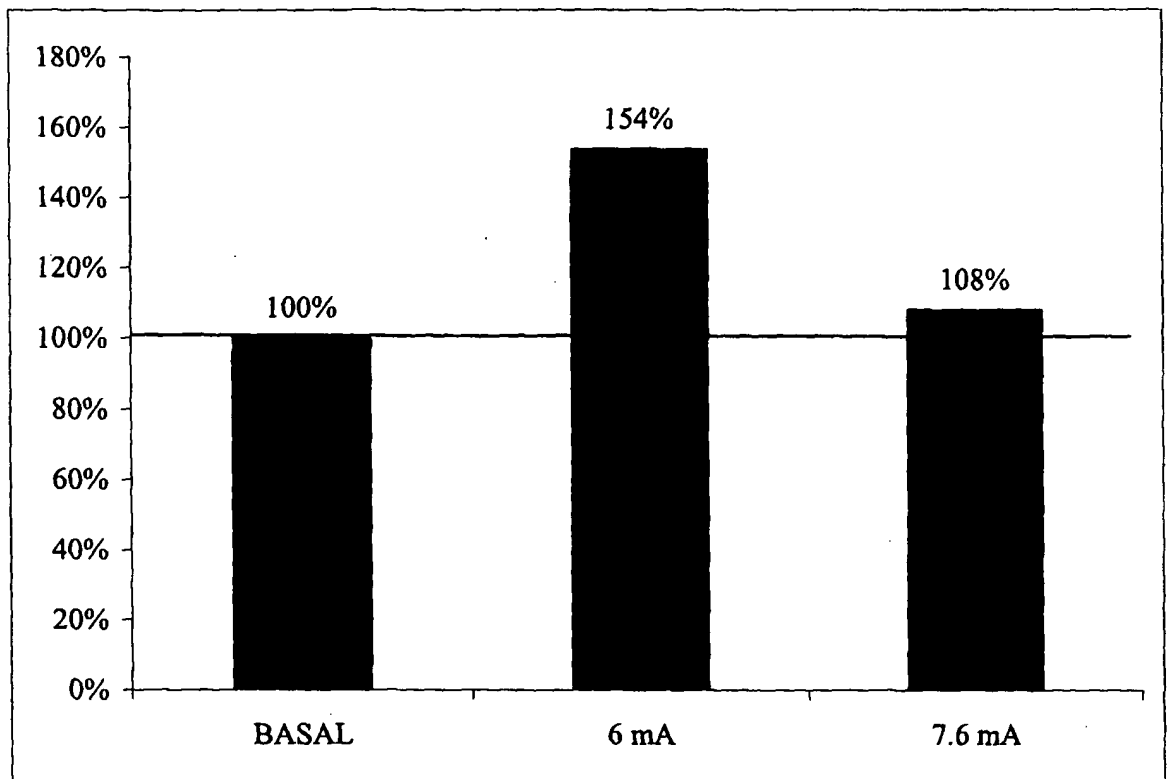


Fig. 6

RESUMO

“MÉTODO PARA AUMENTAR A LIPÓLISE EM UMA CÉLULA DE UM INDIVÍDUO, USO DE UMA CORRENTE ELÉTRICA PARA AUMENTAR A LIPÓLISE EM UMA CÉLULA, E, KIT”

5 São descritos aqui métodos de aumentar a lipólise em uma célula. Tais métodos compreendem a aplicação de uma corrente elétrica em uma célula. Em uma forma de realização, a aplicação da corrente elétrica não altera substancialmente a viabilidade de tal célula e/ou preserva a viabilidade de tal célula. Em uma forma de realização, tal célula é um adipócito. Usos e
10 embalagens correspondentes são também descritos.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para aumentar a lipólise em uma célula de um indivíduo, caracterizado pelo fato de compreender aplicar uma corrente elétrica à célula produzindo hidrólise de lipídeos na célula, em que a dita corrente elétrica promove a despolarização da membrana da dita célula e em
5 que a dita célula permanece viável em seguida a dita aplicação.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de a dita corrente elétrica ser bifásica.

3. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo
10 fato de a dita corrente elétrica ser monofásica.

4. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 3, caracterizado pelo fato de a dita corrente elétrica no nível celular ser de cerca de 2 mA a cerca de 6 mA.

5. Método de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo
15 fato de a dita corrente elétrica ser de cerca de 4 mA.

6. Método de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de a dita despolarização causar uma alteração da atividade de um canal de íon na dita célula.

7. Método de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo
20 fato de a dita despolarização causar uma diminuição da atividade de um canal de íon na dita célula.

8. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de o dito canal de íon ser um de uma família de canal de íons selecionada do grupo consistindo de éter á go-go (EAG), canal de K^+ dependente de
25 voltagem relacionado a síndrome do QT longo (KCNQ), canal ativado por cálcio de pequena condutância (SK), slowpoke (slo), e canal de K^+ dependente de voltagem (Kv).

9. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de o canal de íons ser selecionado do grupo consistindo de eag, erg, elk,

KCNQ1, KCNQ2, KCNQ3, KCNQ4, KCNQ5, Kv1, Kv2, Kv3, Kv4, Kv5, Kv6, Kv7, Kv8 e Kv9.

10. Método de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de o dito canal de íon ser um canal de potássio.

5 11. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de a dita célula ser um adipócito.

12. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de o dito indivíduo ser um mamífero.

10 13. Método de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de o dito mamífero ser um humano.

14. Método de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de o dito adipócito ser localizado em um tecido subcutâneo, um tecido adiposo visceral ou um tecido intramuscular.

15 15. Método de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de o dito tecido subcutâneo ser localizado em uma região selecionada do grupo consistindo de braço, joelho, panturrilha, abdome, coxa, nádegas e quadris.

20 16. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 15, caracterizado pelo fato de o dito aumento de lipólise ser de pelo menos 1,5 vezes com respeito ao nível de lipólise em uma célula de controle.

17. Uso de uma corrente elétrica para aumentar a lipólise em uma célula, caracterizado pelo fato de a dita corrente elétrica causar a despolarização da membrana da dita célula e em que a dita corrente elétrica preserva a viabilidade da dita célula.

25 18. Uso de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de a dita corrente elétrica ser bifásica.

19. Uso de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de a dita corrente elétrica ser monofásica.

20. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de 17

a 19, caracterizado pelo fato de a dita corrente elétrica no nível celular ser de cerca de 2 mA a cerca de 6 mA.

21. Uso de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de a dita corrente elétrica ser de cerca de 4 mA.

5 22. Uso de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de a dita despolarização causar uma alteração da atividade de um canal de íon na dita célula.

10 23. Uso de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de a dita despolarização causar uma diminuição da atividade de um canal de íon na dita célula.

24. Uso de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de o dito canal de íon ser um de uma família de canal de íon selecionada do grupo EAG, KCNQ, SK, slo e Kv.

15 25. Uso de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de o canal de íon ser selecionado do grupo consistindo de eag, erg, elk, KCNQ1, KCNQ2, KCNQ3, KCNQ4, KCNQ5, Kv1, Kv2, Kv3, Kv4, Kv5, Kv6, Kv7, Kv8 e Kv9.

26. Uso de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de o dito canal de íon ser um canal de potássio.

20 27. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de 17 a 26, caracterizado pelo fato de dita célula ser um adipócito.

28. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de 17 a 27, caracterizado pelo fato de a dita corrente elétrica ser adequada para administração a um mamífero.

25 29. Uso de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de dito mamífero ser um humano.

30. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de 17 a 29, caracterizado pelo fato de a dita corrente elétrica ser adequada para administração a um tecido subcutâneo, um tecido adiposo visceral ou um

tecido intramuscular.

31. Uso de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de dito tecido subcutâneo ser localizado em uma região selecionada do grupo consistindo de braço, joelho, panturrilha, abdome, coxa, nádegas e quadris.

32. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de 17 a 31, caracterizado pelo fato de o dito aumento de lipólise ser pelo menos de 1,5 vezes com respeito ao nível de lipólise de uma célula de controle.

33. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de 17 a 32, caracterizado pelo fato de ser para tratar um distúrbio associado com distribuição de gordura.

34. Uso de acordo com a reivindicação 33, caracterizado pelo fato de dito distúrbio associado com a distribuição de gordura ser selecionado do grupo consistindo de lipodistrofia e obesidade.

35. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de 17 a 34, caracterizado pelo fato de ser ainda associado com outro tratamento selecionado do grupo consistindo de um regime de exercício, uma dieta, meios estéticos/cosméticos e bebidas eletrolíticas.

36. Kit, caracterizado pelo fato de compreender:

(i) meio para aplicar uma corrente elétrica; e

(ii) instruções para utilizar os ditos meios no aumento da lipólise em uma célula;

em que a dita corrente elétrica causa a despolarização da membrana da dita célula e em que a dita corrente elétrica substancialmente preserva a viabilidade da dita célula.

37. Kit de acordo com a reivindicação 36, caracterizado pelo fato de as ditas instruções especificarem o uso de uma corrente elétrica de cerca de 2 mA a cerca de 6 mA.

38. Kit de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo

fato de as ditas instruções especificarem o uso de uma corrente elétrica de cerca de 4 mA.

39. Kit de acordo com a reivindicação 38, caracterizado pelo fato de as ditas instruções especificarem que a dita despolarização causa uma alteração da atividade de um canal de íon na dita célula.

40. Kit de acordo com a reivindicação 39, caracterizado pelo fato de as ditas instruções especificarem que dita despolarização causa uma diminuição da atividade de um canal de íon na dita célula.

41. Kit de acordo com a reivindicação 40, caracterizado pelo fato de o dito canal de íon ser um de uma família de canais selecionados do grupo consistindo de EAG, KCNQ, SK, slo e Kv.

42. Kit de acordo com a reivindicação 41, caracterizado pelo fato de o canal de íon ser selecionado do grupo consistindo de eag, erg, elk, KCNQ1, KCNQ2, KCNQ3, KCNQ4, KCNQ5, Kv1, Kv2, Kv3, Kv4, Kv5, Kv6, Kv7, Kv8 e Kv9.

43. Kit de acordo com a reivindicação 40, caracterizado pelo fato de o dito canal de íon ser um canal de potássio.

44. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações de 36 a 43, caracterizada pelo fato de a dita célula ser um adipócito.

45. Kit de acordo com a reivindicação 44, caracterizado pelo fato de as ditas instruções especificarem que o dito adipócito é localizado em um mamífero.

46. Kit de acordo com a reivindicação 45, caracterizado pelo fato de o dito mamífero ser um humano.

47. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações de 36 a 46, caracterizado pelo fato de as ditas instruções especificarem que o dito adipócito é localizado em um tecido subcutâneo, um tecido adiposo visceral ou um tecido intramuscular.

48. Kit de acordo com a reivindicação 47, caracterizado pelo

fato de o dito tecido subcutâneo ser localizado em uma região selecionada do grupo consistindo de braço, joelho, panturrilha, abdome, coxa, nádegas e quadris.

- 5 49. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações de 36 a 48, caracterizado pelo fato de as ditas instruções especificarem que o aumento da lipólise é de pelo menos 1,5 vezes com respeito ao nível de lipólise de uma célula de controle.