



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ODONTOLOGIA (PPGO) - MESTRADO



GIOVANA GUELFY DUTRA

Avaliação histopatológica dos efeitos imediatos e tardios provocados por
lipólise enzimática a base de deoxicolato de sódio manipulado no tecido
subcutâneo de ratos

Cascavel
2021

GIOVANA GUELFY DUTRA

Avaliação histopatológica dos efeitos imediatos e tardios provocados por lipólise enzimática a base de deoxicolato de sódio manipulado no tecido subcutâneo de ratos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia

Área de concentração: Odontologia

Orientador: Profa. Dra. Elaine M. Porto Amorim

Cascavel-PR
2021

Guelfi Dutra, Giovana

Avaliação histopatológica dos efeitos imediatos e tardios provocados por lipólise enzimática a base de deoxicolato de sódio manipulado no tecido subcutâneo de ratos / Giovana Guelfi Dutra; orientadora Elaine Manoela Porto Amorim. -- Francisco Beltrão, 2022.

20 p.

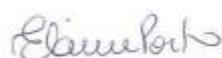
Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Francisco Beltrão) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2022.

1. ácido deoxicólico. 2. lipólise. 3. gordura submental.
I. Porto Amorim, Elaine Manoela, orient. II. Título.

GIOVANA GUELFY DUTRA

Avaliação histopatológica dos efeitos imediatos e tardios provocados por lipólise enzimática a base de deoxicolato de sódio no tecido subcutâneo de ratos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Odontologia, área de concentração Odontologia, linha de pesquisa Patologia Aplicada à Clínica Odontológica, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:



Orientador(a) - Elaine Manoela Porto Amorim

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Joao Paulo de Arruda Amorim

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Leticia de Freitas Cuba Guerra
Universidade Paranaense - Cascavel (UNIPAR)

Cascavel, 13 de dezembro de 2021.

Avaliação histopatológica dos efeitos imediatos e tardios provocados por lipólise enzimática a base de deoxicolato de sódio manipulado no tecido subcutâneo de ratos

RESUMO

INTRODUÇÃO: O deoxicolato de sódio vem sendo muito utilizado para dissolução enzimática do compartimento de gordura submental, sendo o Kybella® o produto padrão ouro utilizado mundialmente. Entretanto, países como o Brasil não autorizaram importação e uso do Kybella® em território nacional, o que abriu precedentes para laboratórios de manipulação produzirem e comercializarem o deoxicolato de sódio a 1% para o mesmo objetivo.

OBJETIVOS: Avaliar a eficácia e possíveis efeitos colaterais imediatos e tardios produzidos por repetidas injeções subcutâneas de deoxicolato de sódio 1% do laboratório brasileiro BIOMETIL no tecido subcutâneo de ratos, bem como avaliar se há similaridades de resultados quando comparado com estudos prévios que analisaram o comportamento do Kybella.

METODOLOGIA: Foram tratados 50 ratos Wistar machos divididos em dois grupos de 25 animais. Grupo controle para qual foi administrada solução salina estéril a 15mg/kg e grupo tratado, que recebeu injeções subcutâneas de deoxicolato de sódio 1% a 15mg/kg do laboratório BIOMETIL. Os dois grupos receberam 3 doses das substâncias com intervalo de 7 dias entre cada sessão e foram eutanasiados 24hrs, 7 dias, 30 dias, 60 dias e 90 dias após a última aplicação. Amostras do tecido injetado foram retiradas, fixadas em formol, incluídas em paraplast, seccionadas a 5 µm e coradas com hematoxilina e eosina. Foram realizadas análises histológicas, avaliando presença de necrose tecidual, processo inflamatório e fibrose, morfologia e número de adipócitos.

CONCLUSÃO: O deoxicolato de sódio 1% Biometil apresentou efeitos adversos semelhantes aos apresentados por Kybella em seus estudos histológicos, causando inflamação local intensa com remissão gradativa ao longo do tempo, levando à lise celular e necrose de tecido adiposo, diminuição do diâmetro e do número de adipócitos. Como efeito colateral foi observado presença de alopecia focal nos grupos tratados.

Palavras-chave: lipólise, ácido deoxicólico, gordura submental

Histopathological evaluation of the immediate and late effects caused by enzymatic lipolysis using a compounded sodium deoxycholate solution in the subcutaneous tissue of rats

ABSTRACT

BACKGROUND: Sodium deoxycholate has been widely used for enzymatic dissolution of the submental fat compartment, and Kybella® is the gold standard product used worldwide. However, countries like Brazil did not authorize the importation and use of Kybella® in national territory, which opened precedents for manipulation laboratories to produce and market 1% sodium deoxycholate for the same purpose.

OBJECTIVES: To evaluate the efficacy and possible immediate and late side effects produced by repeated subcutaneous injections of 1% sodium deoxycholate from the Brazilian laboratory BIOMETIL in the subcutaneous tissue of rats, as well as to assess whether there are similarities in results when compared to previous studies that analyzed the behavior from Kybella.

METHODS: 50 male Wistar rats divided into two groups of 25 animals were treated. A control group to which 15mg/kg of sterile saline solution was administered and a treated group, which received subcutaneous injections of 1% sodium deoxycholate at 15mg/kg from the BIOMETIL laboratory. Both groups received 3 doses of substances with an interval of 7 days between each session and were euthanized 24hrs, 7 days, 30 days, 60 days and 90 days after the last application. Samples of the injected tissue were removed, fixed in formalin, embedded in paraplast, sectioned at 5 µm and stained with hematoxylin and eosin. Histological analyzes were performed, evaluating the presence of tissue necrosis, inflammatory process and fibrosis, morphology and number of adipocytes.

CONCLUSION: Biometil sodium deoxycholate 1% presented adverse effects similar to those presented by Kybella in its histological studies, causing intense local inflammation with gradual remission over time, leading to cell lysis and adipose tissue necrosis, reduction in diameter and number of adipocytes. As a side effect, the presence of focal alopecia was observed in the treated groups.

Keywords: *lipolysis, deoxycholic acid, submental fat*

Dissertação elaborada e formatada conforme
as normas das publicações científicas da
revista: *Aesthetic Surgery Journal*.

Disponível em:

https://academic.oup.com/asj/pages/General_Instructions

SUMÁRIO

1 Introdução	08
2 Metodologia	09
3 Resultados	11
4 Discussão	16
5 Conclusão	17
6 Referências bibliográficas	18
8. Anexos	20

INTRODUÇÃO

Profissionais da saúde vivenciam um notável aumento na procura por procedimentos estéticos faciais, com demanda crescente por procedimentos pouco invasivos. Dentre as queixas mais frequentes está o acúmulo de gordura na região submentoniana (GSM), que possui alternativas de tratamento bem distintas, envolvendo grandes cirurgias ou, mais recentemente praticado, injeções subcutânea de fármacos com propriedades lipolíticas, com destaque para o ácido desoxicólico, mundialmente utilizado e conhecido pela marca Kybella.

O ácido desoxicólico (AD) é um ácido biliar secundário, responsável por solubilizar e emulsionar a gordura proveniente da dieta no intestino. Devido às suas propriedades lipolíticas, sua administração exógena leva à lise da membrana celular dos adipócitos no tecido adiposo. Esse sal biliar vem sendo utilizado clinicamente com o objetivo de diminuir pequenos depósitos de gordura subcutânea e melhorar o contorno facial/corporal, sendo considerado uma alternativa, mais econômica e mais segura, do que procedimentos cirúrgicos invasivos, como a liposucção (ROTUNDA *et al.*, 2004).

Subsequentemente à aplicação do ácido desoxicólico inicia-se o processo de destruição das células adiposas, o que provoca uma reação inflamatória tecidual local que resulta na infiltração de fibroblastos, aumento da produção localizada de colágeno e recrutamento de macrófagos para eliminar lipídios e detritos celulares (HUMPHREY, 2016).

Com o aumento da aplicação clínica do uso de AD, relatos de efeitos colaterais vem sendo documentados. Processo inflamatório, eritema, edema, sensação de queimadura são apontados como efeitos agudos mais comuns, com duração de poucas horas. Efeitos colaterais adicionais como sensibilidade local, equimose e parestesia costumam desaparecer em poucos dias ou semanas. No entanto, existem casos de maior persistência, incluindo a formação de nódulos com remissão após diversas semanas bem como a ocorrência clínica de alopecia focal em barba (FAGIEN *et al.*, 2016; GRADY *et al.*, 2017; SOUYOUL, 2012; SACHDEV *et al.*, 2018; MCKAY *et al.*, 2018; BLANDFORD *et al.*, 2018)

Estudo recente (EL-Gowelli *et al.*, 2016) questiona a segurança a longo prazo na utilização dessas substância na técnica de lipólise por injeção, uma vez que além de inflamação local, degeneração neuromuscular tem sido observada em animais experimentais.

Em um estudo realizado através de biópsias de tecido humano injetado, realizado por Walker *et al.* (2020), os autores demonstraram que as alterações histológicas mais comumente observadas um dia após a injeção estão presentes na camada subcutânea, onde observaram lise

de adipócitos, lesões vasculares, inflamação neutrofílica e lise dos neutrófilos presentes localmente. No terceiro dia após o procedimento, a inflamação foi reduzida em relação ao dia 1 e observou-se a formação de hemorragia e de lago lipídico (nos grupos com injeções de concentrações mais elevadas). As amostras do dia 7 exibiram adipocitólise proeminente, inflamação moderada, macrófagos carregados de lipídios nos septos e reparo de lesão vascular. No dia 28, a inflamação foi amplamente resolvida e as características proeminentes foram espessamento septal (indicativo de neocolagênese), neovascularização e atrofia dos lóbulos de gordura.

A dissolução enzimática de tecido gorduroso da face e da região submental, a partir da injeção subcutânea de AD, vem sendo utilizada nos EUA e Canadá, com licença da FDA (Food and Drugs Administration), desde 2015. O produto de nome comercial Kybella[®], é fabricado pelo laboratório Kythera Biopharmaceuticals[®] (FAGIEN *et al.*, 2016).

No Brasil a importação de Kybella ainda é proibida pela ANVISA, entretanto, laboratórios de manipulação brasileiros comercializam soluções do ácido desoxicólico e seu sal, o deoxicolato de sódio (DS). O presente estudo visa compreender os mecanismos de ação do produto disponível nacionalmente para o procedimento de lipólise enzimática do compartimento de gordura submental, bem como avaliar a eficácia do efeito lipolítico e possíveis eventos adversos relacionados à administração deste fármaco em tecido subcutâneo.

METODOLOGIA

Animais: foram utilizados 50 ratos machos, Wistar, com idade inicial de 90 dias, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Os animais foram adaptados e mantidos no Biotério Setorial Multiusuários do Laboratório de Fisiologia Endócrina e Metabolismo - LAFEM, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS-, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, UNIOESTE, Cascavel-PR.

Grupos experimentais: os animais foram separados em dois grupos experimentais: Grupo Controle (n= 25 animais): os quais receberam injeções subcutâneas em região de prega ingnal de solução salina, sendo 3 doses com intervalo de 7 dias entre cada dose e Grupo DS (n=25 animais), nos quais foram realizadas 3 injeções subcutâneas de deoxicolato de sódio 1%, na dose de 15 mg/kg (dose convertida para os animais da dosagem sugerida para humanos, como descrito por Won TJ *et al.*, 2013), com intervalo de 7 dias entre cada dose. O deoxicolato de

sódio 1% foi adquirido do laboratório de manipulação Biometil®, em embalagens contendo 10mg/ml.

Tabela 1: Resumo do delineamento experimental e do cronograma de eutanásia dos animais experimentais dos grupos control (GC) e tratado (GDS).

Grupo	Número de animais eutanasiados	Tempo após a última aplicação	Objetivo da Análise
GC-24 (3 aplicações solução salina estéril)	5	24hrs	Efeito imediato
GC-7 (3 aplicações solução salina estéril)	5	7	Efeito agudo
GC-30 (3 aplicações solução salina estéril)	5	30	Efeito Crônico
GC-60 (3 aplicações solução salina estéril)	5	60	Persistência ou remissão dos efeitos crônicos
GC-90 (3 aplicações solução salina estéril)	5	90	Persistência ou remissão dos efeitos crônicos
GDS-24 (3 aplicações de DS a 1%)	5	24hrs	Efeito imediato
GDS-7 (3 aplicações de DS a 1%)	5	7	Efeito agudo
GDS-30 (3 aplicações de DS a 1%)	5	30	Efeito Crônico
GDS-60 (3 aplicações de DS a 1%)	5	60	Persistência ou remissão dos efeitos crônicos

GDS-90 (3 aplicações de DS a 1%)	5	90	Persistência ou remissão dos efeitos crônicos
----------------------------------	---	----	---

A eutanásia dos animais foi realizada utilizando dose excessiva de anestésico (ketamina 150 mg/Kg e xilazina 30mg/Kg) por via intraperitoneal. Amostras do tecido subcutâneo do local das injeções foi coletada, fixada em formalina tamponada e posteriormente incluídas em paraplast, cortadas a 7 µm de espessura e coradas com hematoxilina e eosina.

Número e morfometria dos adipócitos: foram avaliados 10 campos microscópicos por animal, na objetiva de 10x. Em cada campo foi realizada a contagem do número total de adipócitos e a mensuração do diâmetro de 20 adipócitos (total de 200 medições/animal), escolhidos aleatoriamente. A análise morfométrica foi realizada utilizando o software Image-Pro® Plus versão 4.5 (Media Cybernetics, Silver Spring, USA). Os valores obtidos foram expressos em médios ± DP.

Análise estatística: os resultados das análises morfométricas (contagem e diâmetro de células), forma expressos em média ± DP. Para a comparação dos resultados entre os grupos experimentais, para cada período de observação, foi realizado, dependendo da natureza da distribuição dos dados, o testes t de Student ou teste de Mann-Whitney. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas no programa InStat (versão 3.0; GraphPad, Inc., San Diego, CA, USA).

RESULTADOS

1. Aspecto macroscópico da pele dos animais, no local das injeções no momento da eutanásia

A figura 1 mostra o aspecto macroscópico da pele dos animais no local das injeções. Nas datas previstas para eutanásia 24h, 7 dias, 30, 60 e 90 dias após as injeções de salina (controle) e deoxicolato de sódio (grupo DS) foi observado que os animais tratados com deoxicolato de sódio apresentaram regiões com queda pelos (figuras B, D, F, H e J) nos locais das aplicações, fato este que não foi observado nos animais do grupo controle (figuras A, C,

E, G e I).

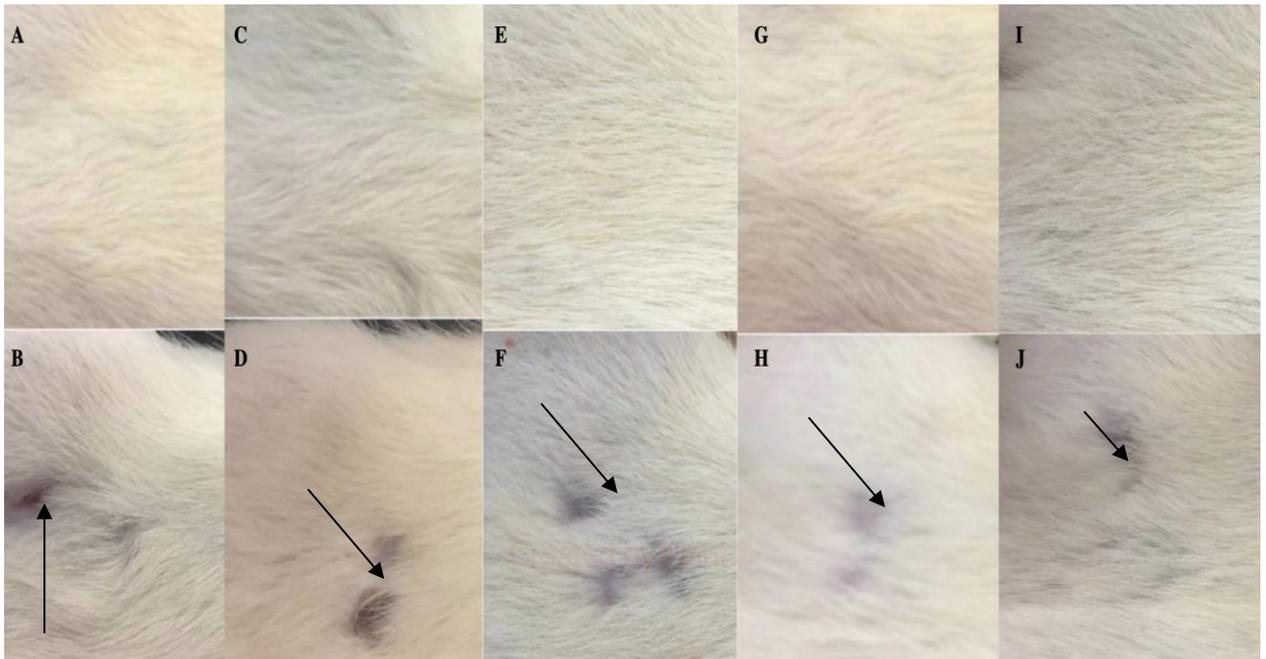


Figura 1: Aspecto macroscópico da pele dos animais eutanaziados 24h (figuras A e B), 7 dias (figuras C e D), 30 dias (E e F), 60 dias (G e H) e 90 dias (I e J) após as injeções de salina (grupo controle: figuras A, C, E, G e I) e deoxicolato de sódio (grupo DS: figuras B, D, F, H e J). Note as regiões com evidente queda de pelos (setas).

2. Análise histológica descritiva

O tecido adiposo subcutâneo dos animais do grupo controle apresentaram aspecto de normalidade, com adipócitos de formato poligonal, contorno uniforme, com pouca matriz extracelular em todos os grupos (figura 2). Nos animais tratados com DS foi observado intenso processo inflamatório, diminuição tecido adiposo e uma menor densidade de adipócitos. A intensidade do processo inflamatório diminuiu gradativamente ao longo do período experimental (figura 3).

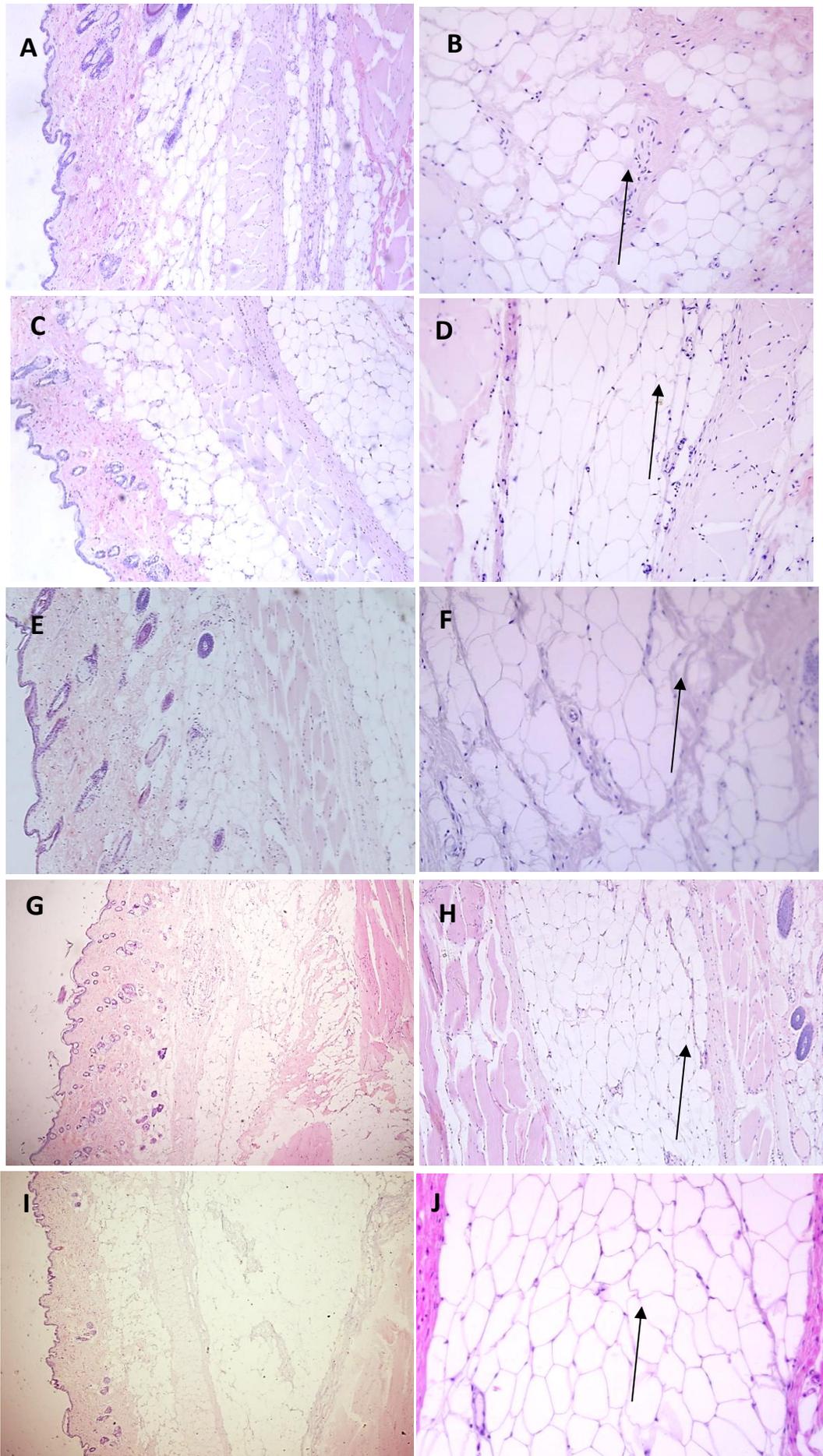


Figura 2. Aspecto histológico da pele dos animais do grupo controle, 24 horas (figuras A e B), 7 dias (figuras C e D), 30 dias (figuras E e F), 60 dias (G e H) e 90 dias (figuras I e J) após a aplicação de três doses de solução salina. Note a morfologia dos adipócitos (seta).

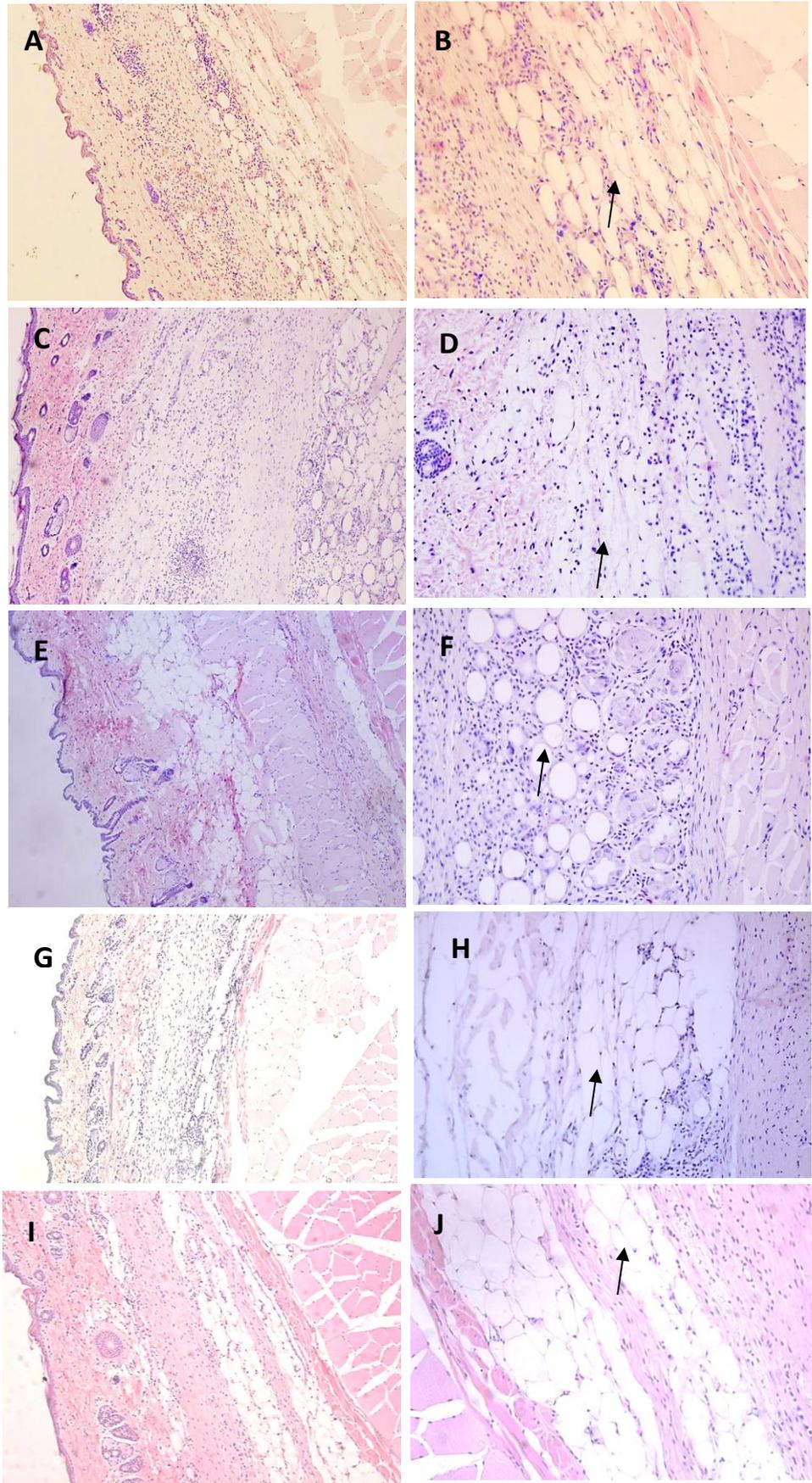


Figura 3. Aspecto histológico da pele dos animais tratados com DS, 24 horas (figuras A e B), 7 dias (figuras C e D), 30 dias (figuras E e F), 60 dias (G e H) e 90 dias (figuras I e J) após a aplicação de três doses de deoxicolato de sódio. Note a diminuição na densidade de adipócitos e presença de processo inflamatório (*). Seta: adipócito.

3. Morfometria dos adipócitos

O número médio de adipócitos no tecido subcutâneo foi menor em todos os grupos de animais tratados com deoxicolato de sódio, quando comparados aos animais do grupo controle (Figura 4). Além disso foi observada uma diminuição no diâmetro dos adipócitos, comparados aos controles (Figura 5).

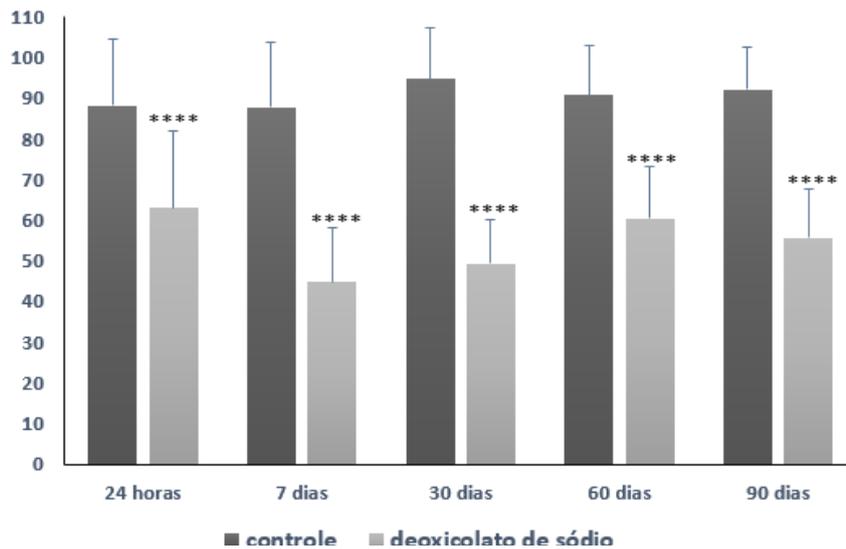


Figura 4. Número médio de adipócitos no tecido subcutâneo dos animais. Dados expressos em média \pm DP. **** $p < 0,0001$, comparados ao controle avaliado no mesmo período de tratamento. Teste t de Student

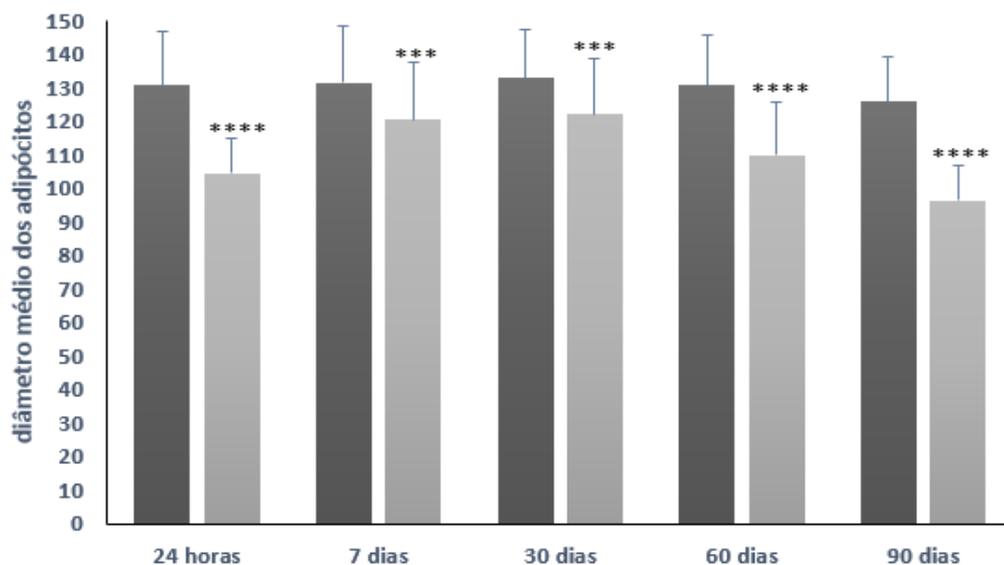


Figura 5. Diâmetro médio dos adipócitos no tecido subcutâneo dos animais. Dados expressos em média \pm DP. **** $p < 0,0001$, *** $p < 0,001$, comparado ao controle avaliado no mesmo período de tratamento. Teste t de Student.

DISCUSSÃO

Injeções subcutâneas com substâncias lipolíticas, tais como o ácido deoxicólico (princípio ativo do Kybella®) ou o deoxicolato de sódio (princípio ativo do Biometil), vem sendo utilizado como um método alternativo para a redução de pequenos depósitos de gordura corporal. Os efeitos no tecido parecem ser similares entre os dois produtos. Nossos resultados mostraram um efeito colateral da aplicação do DS no tecido subcutâneo dos animais que foi a indução de alopecia, caracterizada por regiões com evidente queda de pelos.

A alopecia (transitória ou permanente) está se tornando um efeito adverso cada vez mais reconhecido relacionado ao uso de substâncias lipolíticas, para tratamento de gordura submental (Pham *et al.*, 2020) em pacientes do sexo masculino.

Os mecanismos pelos quais o DS induz a queda de pelos ainda não são totalmente esclarecidos. Entretanto, dois mecanismos podem estar relacionados com o evento: a) resposta inflamatória tecidual local, induzida pela adipocitólise e responsável pela eliminação subsequente de produtos de degradação e debridação celulares, poderia induzir uma lesão indireta nos folículos pilosos, resultando em alopecia; e/ou b) a difusão ou deposição superficial / intradérmica de ácido poderia resultar na destruição direta do bulbo capilar Grady *et al.* (2017).

Embora alguns trabalhos na literatura questionem a segurança em relação ao uso do deoxicolato de sódio (Schuller-Petrovic *et al.*, 2008), não foram observadas, no presente estudo, processos degenerativos tais como necrose tecidual. Além disso, os efeitos da droga se concentraram no tecido subcutâneo, não sendo observadas lesões vasculares, em nervos e no tecido muscular. Foram observados nos animais tratados uma diminuição no número e diâmetro dos adipócitos e processo inflamatório com intensidade decrescente ao longo do período experimental.

Quando injetado no tecido subcutâneo o DS tem a propriedade de romper fisicamente a membrana celular dos adipócitos causando morte celular, o que leva a uma redução no número dessas células. Tecidos relativamente pobres em proteínas, como o tecido adiposo, são mais sensíveis aos efeitos citolíticos do deoxicolato de sódio, do que tecidos relativamente ricos em proteínas, como a derme e o músculo. Portanto, ao que tudo indica, há uma seletividade da droga pelos adipócitos (Gupta *et al.*, 2009; Thuangtong *et al.*, 2010).

O mecanismo de ação proposto para a ação do DS no tecido sugere que após a injeção da solução lipolítica, contendo deoxicolato de sódio, a parede celular dos adipócitos é destruída, resultando em uma cascata de eventos celulares que resultam em necrose inflamatória da célula. A cascata inflamatória também resultaria em migração e estimulação de fibroblastos, resultando

no acúmulo de colágeno (Rotunda *et al.*, 2004; Thuangtong *et al.*, 2010). A destruição das células adiposas provoca uma reação inflamatória tecidual local que resulta na infiltração de fibroblastos, aumento da produção localizada de colágeno e recrutamento de macrófagos para eliminar lipídios e detritos celulares (Humphrey, 2016).

CONCLUSÃO

Com base nos resultados observados no presente estudo concluimos que:

- O deoxicolato de sódio, assim como ácido deoxicólico, foi efetivo em diminuir os depósitos de gordura no tecido subcutâneo dos animais, evidenciado pela diminuição no número e diâmetro dos adipócitos;
- O processo inflamatório esteve presente nos locais de aplicação da solução lipolíticas com diminuição da intensidade ao longo do período experimental
- O deoxicolato de sódio causou alopecia nos animais o que pode ser considerado um efeito colateral e indesejável da droga.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rotunda, A.M., Suzuki, H., Kolodney, M.S. Detergent effects of sodium deoxycholate are a major feature of an injectable phosphatidylcholine formulation used for localized fat dissolution. *Dermatologic Surgery* 2004 Jul;30(7):1001-8
2. Humphrey, A., Sykes, J., Kantor, J., Bertucci, V., Walker, P., Lee, D.R.. ATX-101 for reduction of submental fat: a phase III randomized controlled trial. *Journal of the American Academy of Dermatology* 2016 Oct;75(4):788-797.e7.
3. Fagien, Steven MD, FACS^{*}; McChesney, Patricia PhD, CMPP[†]; Subramanian, Meenakshi PhD[‡]; Jones, Derek H. MD[‡] Prevention and Management of Injection-Related Adverse Effects in Facial Aesthetics: Considerations for ATX-101 (Deoxycholic Acid Injection) Treatment, *Dermatologic Surgery*: 2016 -Nov; Volume 42 - Issue - p S300-S304
4. Grady, B., Porphirio, F. & Rokhsar, C.. Submental alopecia at deoxycholic acid injection site. *Dermatologic Surgery* 2017 Aug;43(8):1105-1108.
5. Souyoul, S., Gioe, O., Emerson, A., Hooper, D.O. Alopecia after injection of ATX-101 for reduction of submental fat. *Journal of the American Academy of Dermatology Case Reports* 2017 May 23;3(3):250-252.
6. Sachdev, D; Mohammadi, T; Fabi, SG. Deoxycholic Acid-Induced Skin Necrosis: Prevention and Management. *Dermatol Surg*;44(7):1037-1039, 2018 Jul;44(7):1037-1039.
7. McKay, C; Price, C; Pruett, L. Vascular Injury After Deoxycholic Acid Injection. *Dermatol Surg*. 2019 Feb;45(2):306-309.
8. Blandford, Ad; Ansari, W; Young, Jm; Maley, B . Deoxycholic Acid and the Marginal Mandibular Nerve: A Cadaver Study. *Aesthetic Plast Surg*. 42(5):1394- 1398. 2018 Out.
9. El-Gowellia, H.M., El-Sabaab, B., Yosryc, E. & El-Saghirc, E. Histopathological and ultra-structural characterization of local neuromuscular damage induced by repeated phosphatidylcholine/deoxycholate injection. *Experimental and Toxicologic* 2016 Jan;68(1):39-46.
10. Waker, P; Lee, D; Toth, BS. A histological analysis of the effects of single doses of ATX-101 on subcutaneous fat: results from a phase 1 open-label safety study of ATX101 *Dermatologic Surgery* 2020 Jan;46(1):70-77.
11. Won, Tj; Nam, Y; Lee, Hs; Chung, S; Lee, Jh; Chung, Yh; Park, Es; Hwang, Kw; Joeng, JH. Injection of phosphatidylcholine and deoxycholic acid regulates gene expression of

- lipolysis-related factors, pro-inflammatory cytokines, and hormones on mouse fat tissue. *Food and Chemical Toxicology*. 2013 Oct;60:263-8.
12. Pham, C.T., Lee, A., Sung, C.T., Choi, F., Juhasz, M. & Mesinkovska, N.A. Adverse Events of Injectable Deoxycholic Acid. *Dermatologic Surgery* 2020 Jul; 46, 942-949.
 13. Schuller-Petrovic, S., Wolkart, G., Hofler, G., Neuhold, N., Freisinger, F., Brunner, F. Tissue-toxic effects of phosphatidylcholine/deoxycholate after subcutaneous injection for fat dissolution in rats and a human volunteer. *Dermatologic Surgery* 2008 Apr ;34:529–42.
 14. Gupta, A., Loboeki, C., Singh, S., Robertson, M., Akadiri, O.A., Malhotra, G., Jackson, I.T. Actions and comparative efficacy of phosphatidylcholine formulation and isolated sodium deoxycholate for different cell types. *Aesthetic Plastic Surgery* 2009 Feb; 33, 346-352.
 15. Thuangton, R., Bentow, J.J., Knopp, K., Mahmood, N.A., Kolodney, M.S. Tissue-selective effects of injected deoxycholate *Dermatologic Surgery* 2010 Jun; 36, 899-908.

ANEXOS



Universidade Estadual do Oeste do Paraná
 Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
 Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA

Autorização

O Protocolo nº 18-19 intitulado "Avaliação histopatológica dos efeitos imediatos e tardios, induzido por repetidas injeções de deoxicolato de sódio no tecido subcutâneo de ratos.", sob a responsabilidade de **Elaine Manoela Porto Amorim** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica encontra-se **Aprovado** para execução, está de acordo com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do UNIOESTE Ad referendum no dia 05/08/2019.. Essa Autorização não substitui o Certificado Experimental de realização ética da pesquisa, necessitando do encaminhamento do Relatório Final de execução do Projeto para sua emissão.

FINALIDADE	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/08/2019 - 31/07/2021
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico - Wistar
Nº	56
Peso/Idade	350g - 90 dias
Sexo	macho
Origem	Biotério Central da Unioeste localizado no Campus de Cascavel.

Cascavel, 05/08/2019

Profa. Dra. Luciana Oliveira de Fariña
 Coordenadora do CEUA
 Portaria nº 3126/2018-GRE