

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DAS ANÁLISES HISTOLÓGICAS DE ESTEATOSE
EXPERIMENTAL, REALIZADAS POR ACADÊMICOS TREINADOS E
PATOLOGISTA**

 <https://doi.org/10.56238/sevened2025.021-002>

Gustavo Luiz Pacher Schmitz

Graduando de Medicina

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

E-mail: 20072640@uepg.br

Crisangela Cristin Consul

Graduanda de Medicina

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

E-mail: crisangelaconsul@gmail.com

Flávia Cristina Colmenero

Graduanda de Medicina

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

E-mail: flavcolmenero@gmail.com

Gabriel Hito dos Santos

Graduando de Medicina

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

E-mail: santos.gabrielhito@gmail.com

Isabela Hess Justus

Graduanda de Medicina

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

E-mail: isabelahessjustus@gmail.com

Maria Clara Bischof Chicalski

Graduanda de Medicina

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

E-mail: mariaclara.bc.mcbbc@gmail.com

Pedro Henrique Cury Tonon

Graduando de Medicina

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

E-mail: tononph@gmail.com

Sérgio Ossamu Ioshii

Doutor em Medicina

Instituição: Universidade Federal do Paraná

E-mail: sergio.ioshii@pucpr.br

RESUMO

A participação de acadêmicos no processo de pesquisa é limitada pela falta de treinamento específico, o que reduz sua eficácia e engajamento. Este estudo avaliou o desempenho de acadêmicos de medicina treinados na análise histológica da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) em modelo animal, comparando suas análises com as de um patologista. A pesquisa foi realizada com sete acadêmicos do curso de medicina da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), que analisaram amostras de tecido hepático de coelhos, utilizando o sistema de escore histológico previamente validado. Os resultados mostraram que as análises de esteatose e balonização realizadas pelos acadêmicos foram semelhantes às do patologista, sem diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$). No entanto, a análise de inflamação lobular apresentou diferença significativa ($p<0,001$), sugerindo a necessidade de maior tempo de treinamento para essa alteração específica. Conclui-se que, com treinamento adequado, acadêmicos de medicina podem realizar análises histológicas de DHGNA em modelos animais, potencializando a produção científica institucional.

Palavras-chave: Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica. DHGNA. Treinamento acadêmico. Esteatose hepática. Educação médica. Modelo animal.

1 INTRODUÇÃO

A participação de acadêmicos no processo de pesquisa como um todo é limitada principalmente pela falta de treinamento específico, sendo essa, uma barreira muitas vezes vista por eles como intransponível. Sem o adequado treinamento, a participação do acadêmico torna-se algo próximo à prestação de serviços meramente mecânica e periférica, desestimulante e pouco efetiva. A partir da orientação e treinamento de acadêmicos de medicina que já concluíram as disciplinas curriculares básicas, (a partir do 4º ano), no contexto da pesquisa proposta, pode-se não somente inseri-los de forma objetiva e produtiva em pesquisas de determinada linha, bem como estimulá-los a desenvolverem aptidões. Por outro lado, as atividades de pesquisa da instituição envolvendo acadêmicos treinados, terão refinamento técnico e consequentemente culminarão com produção científica mais expressiva em número e qualidade.

O sistema de escore para a análise histológica da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) validado por artigo previamente publicada (Kleiner, 2005) tem sido utilizado em estudos clínicos randomizados (Sanyal, 2010; Neuschwander-Tetri, 2015; Lavine, 2011) e experimentos (Sturzeneker, 2011; Sturzeneker, 2019). O referido sistema de escore permite a finalização objetiva das análises histológicas, por expressão numérica, facilitando a conclusão, bem como a comparação das mesmas. Esteatose, inflamação lobular, degeneração balonizante de hepatócitos (balonização) e fibrose são as alterações histopatológicas básicas que podem ser encontradas na DHGNA em humanos (Chalasani, 2018). A esteatohepatite não alcoólica (EHNA) é definida pela presença concomitante das 3 primeiras alterações histopatológicas citadas, com ou sem fibrose associada (Chalasani, 2018) e sua presença pode ser estimada pela soma não ponderada dos escores de esteatose, inflamação lobular e balonização (Kleiner, 2005).

Até o momento, não há estudos adequadamente divulgados avaliando o desempenho de acadêmicos treinados em análise histológica de amostras de tecido hepático de modelo animal de DHGNA. Entretanto, viabilizar de forma efetiva a participação de acadêmicos nesse processo, pode culminar com a expansão, com qualidade, da produção de experimentos de instituições de ensino e pesquisa e consequentemente ampliar o conhecimento específico tanto de acadêmicos quanto de professores pesquisadores. Nessa linha racional, realizou-se o estudo em questão, com o objetivo de avaliar o desempenho de acadêmicos de medicina treinados em análise histológica de amostras de tecido hepático de modelo animal de DHGNA, comparando as análises dos respectivos acadêmicos com a análise padrão do patologista.

2 OBJETIVO

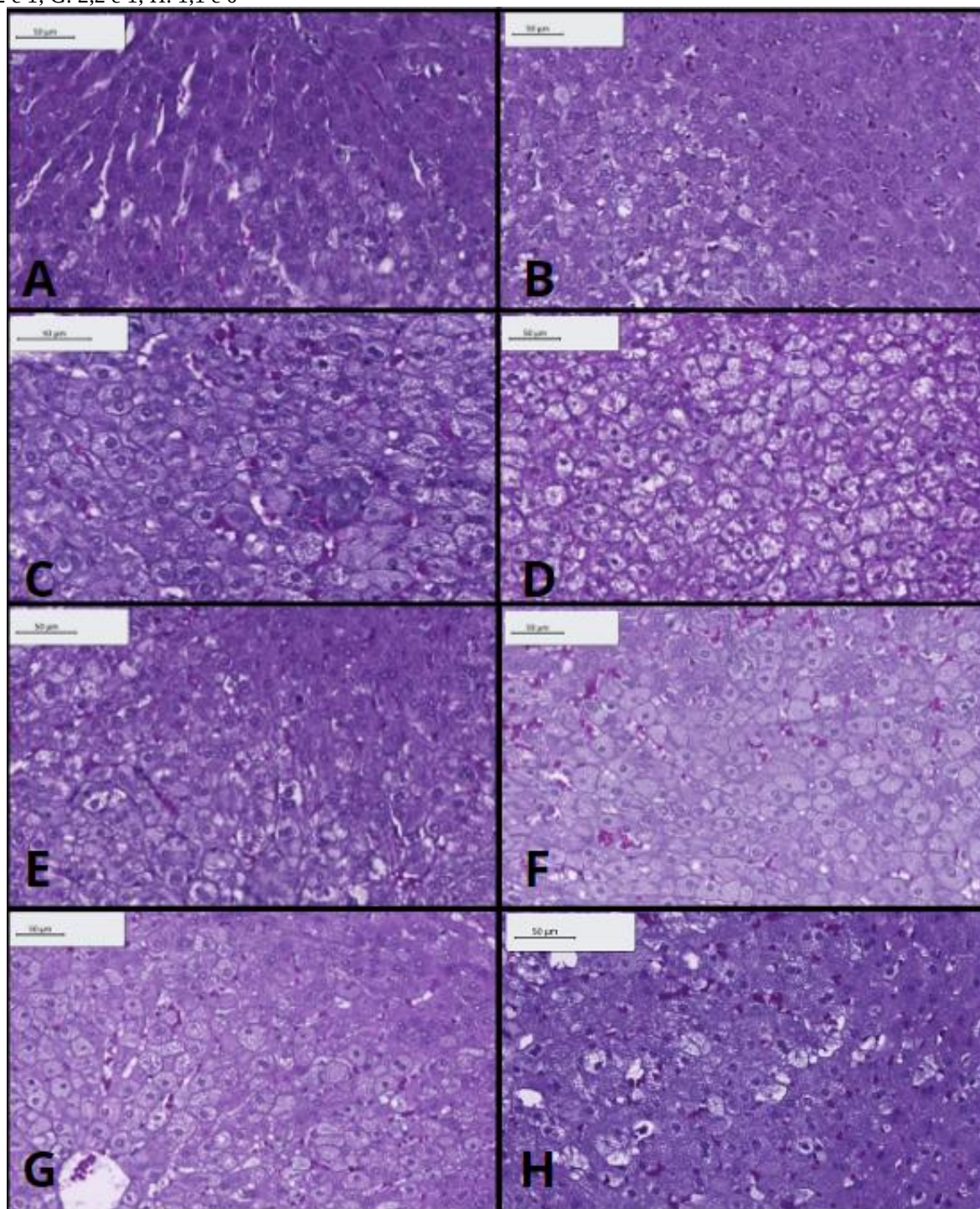
Comparar as análises histológicas de esteatose experimental, efetuadas por acadêmicos de medicina treinados de nossa instituição, baseadas no sistema de escore para análise histológica da

DHGNA, com a mesma análise efetuada por especialista da área (patologista). Contribuir para a validar a análise histológica da DHGNA experimental, efetuada por acadêmicos treinados e consequente estimular a criação de programa de capacitação de acadêmicos nesse contexto.

3 MÉTODO

Estudo previamente idealizado e cadastrado como pesquisa docente na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), realizado entre fevereiro e julho de 2024. O processamento das amostras de tecido foi feito pelo laboratório de patologia experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR). A análise especializada, seleção do material e montagem do material para aulas e análises foram realizadas pelo médico patologista e professor envolvido no estudo e os acadêmicos envolvidos são atualmente acadêmicos da graduação do curso de medicina da UEPG: 3 acadêmicos do 6º e 4 acadêmicos do 4º ano. Foram confeccionadas lâminas, coradas com hematoxilina e eosina, de amostras de tecido hepático de coelhos machos albinos (*Oryctolagus cuniculus*), da linhagem *New Zealand*, procedentes do Biotério Central da PUC-PR, utilizados em experimento previamente realizado na respectiva instituição, aprovado pelo comitê de ética no uso de animais com parecer número 240/08 (Sturzeneker, 2011) e recentemente submetido a reanálise ampliada (Justus, 2024). Após a seleção de lâminas com amostra de tecido hepático representativas de 3 alterações histológicas (esteatose, inflamação lobular e balonização), bem como de ausência das respectivas alterações básicas, foram realizadas fotomicrografias disponibilizadas por meio do programa computacional Zeiss Zen Lite. Os acadêmicos foram orientados pelo patologista, sendo as análises realizadas com base no sistema de escore para análise histológica da DHGNA (tabela 1), exceto a balonização que foi dividida em 3 níveis (escores 0 a 2) visando facilitar a análise dos acadêmicos (Kleiner, 2005). Subsequentemente, as imagens básicas foram disponibilizadas e as dúvidas relacionadas à análise foram esclarecidas na sequência por contato com os professores orientadores. Posteriormente disponibilizou-se 33 fotomicrografias contento as alterações histológicas em todos os seus graus (escore 0 a 3), distribuídas de forma aleatória para a análise final dos acadêmicos que foi concluída em 3 a 4 semanas após a primeira orientação formalizada (figuras 1 e 2).

Figura 1. Fotomicrografias de lâminas coradas com hematoxilina e eosina, aumento de 200 X, com diferentes escores (0 a 3), respectivamente de esteatose, balonização e inflamação lobular. A: 0,1 e 0; B: 1,1 e 1; C: 2,2 e 2; D: 3,2 e 2, E: 1,2 e 0; F: 3,2 e 1; G: 2,2 e 1; H: 1,1 e 0



Fonte: composição dos autores.

Os resultados das análises histológicas de cada parâmetro (esteatose, inflamação lobular e balonização) foram comparados através do teste de Kruskal-Wallis, como alternativa à análise de variância (ANOVA) a um fator. As comparações múltiplas foram realizadas por meio do teste de Dwass-Steel-Critchlow-Fligner. Os dados foram analisados, utilizando-se o programa computacional Jamovi versão 2.3.28. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Tabela 1 – Principais parâmetros do sistema de escore para análise histológica da DHGNA

Alteração	Definição	Escore
Grau de esteatose	<5%	0
	5 a 33%	1
	>33 a 66%	2
	>66%	3
Inflamação lobular	Sem foco	0
	<2 focos/campo(200 X)	1
	2-4 focos/campo(200X)	2
	>4 focos/campo(200X)	3
Balonização	Ausente	0
	Poucas células	1
	Muitas células	2

Fonte: composição dos autores.

4 RESULTADOS

A comparação dos resultados das análises histológicas de cada parâmetros de interesse (esteatose, inflamação lobular e balonização) realizadas pelo patologista e os 7 acadêmicos envolvidos não mostrou diferença significativa em relação à esteatose ($p=0,765$), sendo o mesmo observado em relação à balonização ($p=0,120$). A comparação 2 a 2 demonstrou semelhança entre todas as análises de esteatose e balonização (tabela 2). Entretanto, houve diferença significativa entre as análises e inflamação lobular, com valor de $p<0,001$. As comparações, 2 a 2, entre as análises do patologista e dos acadêmicos foram semelhantes, excetuando a efetuado com o acadêmico 2, cujo valor de foi significativo: $p=0.003$ (tabela 2).

Tabela 2. Comparações múltiplas 2 a 2

COMPARAÇÃO 2 A 2		ALTERAÇÃO HISTOLÓGICA – VALOR DE p		
		Esteatose	Balonização	Inflamação Lobular
Patologista	Acad.1	0.998	1.000	0.873
Patologista	Acad.2	0.999	1.000	0.003
Patologista	Acad.3	0.987	0.991	1.000
Patologista	Acad.4	1.000	1.000	0.973
Patologista	Acad.5	0.984	0.215	0.013
Patologista	Acad.6	1.000	1.000	0.928
Patologista	Acad.7	1.000	0.996	1.000

Fonte: composição dos autores.

As comparações 2 a 2 entre os acadêmicos tiveram valor significativo tiveram valor significativo conforme demonstrado a seguir: entre os acadêmicos 1 e 2 ($p<0,001$), 1 e 5 ($p<0,001$), 2 e 4 ($p<0,001$), 2 e 6 ($p=0,038$), 2 e 7 ($p=0,004$), 4 e 5 ($p<0,001$) e entre os acadêmicos 5 e 7 ($p=0,011$) (tabela 3).

Tabela 3. Comparações múltiplas 2 a 2

COMPARAÇÃO 2 A 2		ALTERAÇÃO HISTOLÓGICA – VALOR DE p		
		Esteatose	Balonização	Inflamação Lobular
Acad.1	Acad.2	0.918	1.000	< .001
Acad.1	Acad.3	0.779	0.993	0.862
Acad.1	Acad.4	0.991	1.000	1.000

Acad.1	Acad.5	0.799	0.194	< .001
Acad.1	Acad.6	1.000	1.000	0.168
Acad.1	Acad.7	0.994	0.997	0.884
Acad.2	Acad.3	1.000	0.983	0.005
Acad.2	Acad.4	1.000	1.000	< .001
Acad.2	Acad.5	1.000	0.165	0.716
Acad.2	Acad.6	0.996	1.000	0.038
Acad.2	Acad.7	0.999	0.991	0.004
Acad.3	Acad.4	0.997	0.998	0.970
Acad.3	Acad.5	1.000	0.746	0.019
Acad.3	Acad.6	0.971	0.998	0.930
Acad.3	Acad.7	0.987	1.000	1.000
Acad.4	Acad.5	0.996	0.313	< .001
Acad.4	Acad.6	1.000	1.000	0.315
Acad.4	Acad.7	1.000	1.000	0.980
Acad.5	Acad.6	0.966	0.326	0.109
Acad.5	Acad.7	0.990	0.518	0.011
Acad.6	Acad.7	1.000	0.999	0.876

Fonte: composição dos autores.

5 DISCUSSÃO

A análise histológica da DHGNA baseada no sistema de escore (Kleiner, 2005) permite a padronização do resultado e consequentemente reduz a variabilidade interobservador. Portanto, possibilita a inclusão de acadêmicos adequadamente orientados no processo de análise histológica, o que, nesse contexto, amplia a potencial produtivo da instituição.

Em nosso estudo, foram analisadas e comparadas, as 3 alterações histológicas básicas que caracterizam a DHGNA em humanos (esteatose, inflamação lobular e balonização de hepatócitos), com base em sistema de análise previamente validado (Kleiner, 2005), o material de modelo animal utilizado foi anteriormente publicado com outras formas de abordagem em revistas indexadas (Sturzeneker, 2011; Justus, 2024). Portanto, em linhas gerais, o estudo em questão tem valor, do ponto de vista prático, para instituições voltadas para a pesquisa.

As análises de esteatose do patologista e dos 7 acadêmicos foram semelhantes ($p=0.765$), sendo o mesmo observado em relação às análises de balonização ($p=0,120$). A comparação 2 a 2 reforçou essa semelhança, pode-se caracterizando uma variabilidade interobservador não significativa. Tal resultado leva-nos a inferir que houve maior facilidade de assimilação do processo de aprendizagem, delineado como método, para essas duas alterações histológicas. Entretanto, houve diferença significativa em relação a análise da inflamação lobular ($p<0,001$), demonstrada na comparação 2 a 2 entre o patologista e o acadêmico 2 ($p=0.003$) e entre acadêmicos principalmente envolvendo o acadêmico 2 (tabela 2).

Possivelmente, o processo de treinamento dos acadêmicos foi inadequado somente para a análise de inflamação lobular, provavelmente porque necessita de caracterização mais detalhada e portanto, com maior complexidade que as demais analisadas (esteatose e balonização). Portanto, para essa alteração, um período maior de treinamento com maior exploração dos diferentes escores de

inflamação torna-se necessário e provavelmente determinaria o mesmo desfecho das outras alterações analisadas. Faz-se necessário enfatizar que todos os acadêmicos que voluntariaram-se para participar do estudo foram inseridos (7 acadêmicos) e nenhum deles foi excluído para a finalização e análise dos resultados, o que poderia ser diferente se a análise do acadêmico 2 fosse excluída.

Quanto ao fato de que a maior parte do processo de treinamento foi feito por via remota e todo o processo de análise ter sido realizado por meio de fotomicrografias ou seja “lâminas digitais”, o que pode ser denominado de patologia digital, em meta-análise que selecionou 24 estudos de validação, totalizando 19.468 comparações entre lâmina digital e física, a taxa de concordância geral e completa observada foi respectivamente 98,3% e 92% (Azam, 2021). Em relação ao processo de ensino, em medicina humana, a substituição da patologia convencional pela patologia digital tem sido reportada (Bertram, 2017). O uso de lâminas digitais ou a projeção da imagem das lâminas em telas tem sido amplamente utilizadas em instituições de ensino, o que rompe a barreira limitante imposta pela análise simples via microscopia óptica (Al-Janabi, 2012). Em estudo específico, comparado aos métodos tradicionais, a patologia digital teve aceitação significativamente positiva pelos acadêmicos, principalmente pela praticidade, redução de falhas técnicas e a ampliação do acesso (Alves, 2021).

6 CONCLUSÃO

A análise histológica da esteatose e da degeneração balonizante de hepatócitos (balonização), de modelo animal de DHGNA (coelhos hipercolerolêmicos), pode ser realizada por acadêmicos de medicina adequadamente treinados. Contudo, para a análise de inflamação lobular, há necessidade de tempo adicional de treinamento devidamente ajustado para cada acadêmico envolvido. Portanto, pode-se inferir que com o método adequado de treinamento, as alterações histológicas básicas da DHGNA humana, desenvolvidas em modelo animal, podem ser analisadas por acadêmicos de medicina adequadamente treinados, o que pode ampliar significativamente a produção experimental nesse contexto.

REFERÊNCIAS

- AL-JANABI, S.; HUISMAN, A.; VAN DIEST, P. J. Digital pathology: current status and future perspectives. *Histopathology*, v. 61, n. 1, p. 1–9, 2012. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2011.03814.x. Acesso em: 14 ago. 2024.
- ALVES, M. C. F. B.; CARNEIRO, T. V.; MOTA, T. C.; LUCAS, R. A.; MALTA, M. J. A.; TEIXEIRA, T. M. F. L.; COLARES JÚNIOR, R.; OSTERNE, R. L. V. Uso de scanner de lâminas histológicas no processo de aprendizado de patologia entre acadêmicos de medicina / Use of histological blade scanner in the pathology learning process among medicine students. *Brazilian Journal of Health Review*, [S. l.], v. 4, n. 5, p. 22098–22103, 2021. DOI: 10.34119/bjhrv4n5-307. Acesso em: 14 ago. 2024.
- AZAM, A. S. et al. Diagnostic concordance and discordance in digital pathology: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Pathology*, v. 74, n. 7, p. 448–455, 2021. DOI: 10.1136/jclinpath-2020-206764. Acesso em: 14 ago. 2024.
- BERTRAM, C. A.; KLOPFLEISCH, R. The pathologist 2.0: an update on digital pathology in veterinary medicine. *Veterinary Pathology*, v. 54, n. 5, p. 756–766, 2017. DOI: 10.1177/0300985817709888. Acesso em: 14 ago. 2024.
- CHALASANI, N. et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, v. 67, n. 1, p. 328–357, 2018. DOI: 10.1002/hep.29367. Acesso em: 14 ago. 2024.
- JUSTUS, I. H.; COLMENERO, F. C.; CONSUL, C. C.; KARAS, B.; PARLOW, J. M.; SANTOS, G. dos; MATERA, M. O.; MIGLIORINI, M. P.; SCHMITZ, G. L. P.; WENGLAREK, K. M.; RODRIGUES, E. N.; SILVA, T. de L. da; CAMPOS, T. N. de; WESSELOVICZ, R. M.; SANTOS, G. H. dos; STURZENNEKER, M. C. S. Bloqueio do receptor AT1 da angiotensina: um dos alvos terapêuticos da doença hepática gordurosa não alcoólica?. *Brazilian Journal of Health Review*, [S. l.], v. 7, n. 3, p. e70802, 2024. DOI: 10.34119/bjhrv7n3-436. Acesso em: 14 ago. 2024.
- LAVINE, J. E. et al. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA*, v. 305, n. 16, p. 1659–1668, 2011. DOI: 10.1001/jama.2011.520. Acesso em: 14 ago. 2024.
- NEUSCHWANDER-TETRI, B. A. et al. Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*, v. 385, n. 9972, p. 956–965, 2015. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61933-4. Acesso em: 14 ago. 2024.
- SANYAL, A. J. et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *The New England Journal of Medicine*, v. 362, n. 18, p. 1675–1685, 2010. DOI: 10.1056/NEJMoa0907929. Acesso em: 14 ago. 2024.
- STURZENNEKER, M. C. et al. Olmesartan severely weakened the development of NASH in an animal model of hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, v. 216, n. 1, p. 97–102, 2011. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.01.047. Acesso em: 14 ago. 2024.
- STURZENNEKER, M. C. S. et al. Ramipril significantly attenuates the development of non-alcoholic steatohepatitis in hyperlipidaemic rabbits. *Am J Cardiovasc Dis*, v. 9, n. 2, p. 8-17, 2019.