

RevSALUS

Revista Científica da Rede Académica das
Ciências da Saúde da Lusofonia





Rede Académica
das Ciências da Saúde
da Lusofonia

**SAVE
THE
DATE**

09/10 JULHO

**III Jornadas
LusoSaúde**

Jornadas Científicas de
Saúde da Lusofonia



2026



Propriedade

Rede Académica das Ciências da
Saúde da Lusofonia – RACS

Direção

Diretor

Jorge Conde (Portugal)

Editor Chefe

Ricardo Jorge Dinis-Oliveira (Portugal)

Secretariado Editorial

Márcia Pereira (Portugal)

Marta Patrício (Portugal)

Conselho Editorial

Editor Chefe

Ricardo Jorge Dinis-Oliveira (Portugal)

Ciências Dentárias

Inês Caldas (Portugal)

Ciências Farmacêuticas

Carlos Wayhs (Brasil)

Ciências Médicas

Paula Oliveira (Angola)

Ciências da Nutrição

Sandra Leal (Portugal)

Enfermagem

Florinda Galinha (Portugal)

Psicologia da Saúde

Maria da Graça Vinagre (Portugal)

Tecnologias de Diagnóstico e

Terapêutica

Armando Caseiro (Portugal)

Terapia e Reabilitação

Jaime Ribeiro (Portugal)

Editores Associados

Audiologia

David Tomé (Portugal)

RevSALUS

Estatuto Editorial

A *RevSALUS* da Rede Académica das Ciências da Saúde da Lusofonia - RACS é uma revista científica internacional em língua portuguesa, de acesso aberto, com a finalidade de promover a divulgação da produção científica, fortalecendo a cooperação internacional no contexto da investigação, ensino, desenvolvimento e inovação, em todas as áreas da saúde ou a elas aplicadas.

A Revista identifica-se com a missão e os objetivos da RACS, promovendo a formação e a cooperação científica na área das ciências da saúde entre instituições do ensino superior e centros de investigação de países e comunidades de língua portuguesa, no espaço lusófono internacional num contexto da investigação, desenvolvimento e inovação.

A promoção e a difusão da produção científica em ciências da saúde no espaço lusófono internacional é um dos pilares estratégicos da RACS, enquadrados nos seus fins e objetivos estatutários, contribuindo desta forma para “dinamizar e fortalecer a cooperação internacional no contexto da investigação, desenvolvimento e inovação” (Artigo 3º).

Perfil Editorial

A *RevSALUS* publica artigos de investigação originais, artigos de revisão, artigos breves (*short communications*), editoriais e artigos de opinião científica, resenhas críticas, cartas ao editor, casos clínicos, relatos de experiência, imagens em saúde e destaques biográficos da equipa editorial ou autores. Nesta linha de ação são encorajados os artigos de carácter interdisciplinar a várias áreas científicas no âmbito da saúde.

Os artigos a publicar estão sujeitos a um sistema de revisão por pares, *double-blind*, de submissão e publicação gratuitas. Após a aceitação do artigo, cabe aos autores assegurar os custos da tradução e/ou revisão linguística do mesmo.

São salvaguardados os direitos de autor dos textos publicados de acordo com as normas próprias da Revista.

Ciências Dentárias

Júlio Souza (Portugal)

Filomena Salazar (Portugal)

Ana Mano Azul (IUEM) (Portugal)

Ciências Biomédicas Laboratoriais

Renato Abreu (Portugal)

Hassan Bousbaa (Portugal)

Ciências Farmacêuticas

André Valle de Bairros (Brasil)

Félix Carvalho (Portugal)

Eduardo Ekundi Valentim (Angola)

Ciências Médicas

Daimary M. Rodriguez (Moçambique)

Ciências da Nutrição

Manuela Meireles (Portugal)

Ciências da Visão

Daniela Lopes (Portugal)

Enfermagem

Luciene Muniz Braga (Brasil)

Natália Machado (Portugal)

Suely Lima dos Reis (Cabo Verde)

Fisiologia Clínica

Telmo Santos Pereira (Portugal)

Fisioterapia

Flávia Mazzoli da Rocha (Brasil)

Marlene Rosa (Portugal)

Rubim Santos (Portugal)

Imagem Médica e Radioterapia

Ricardo Ribeiro (Portugal)

Guillermo Lopéz (Brasil)

Ortoprotesia e Podologia

Liliana Ávidos (Portugal)

Psicologia da Saúde

Ana Cláudia Bortolozzi (Brasil)

Ana Maria Galvão (Portugal)

Saúde e Ambiente

Maria Manuela Vieira da Silva (Portugal)

Terapia da Fala

Ricardo Santos (Portugal)

Terapia Ocupacional

Helena Reis (Portugal)

Vanda Pedrosa (Portugal)

Francisco Barrantes (Portugal)

Revisores

Os Revisores científicos da *RevSALUS* são personalidades, selecionadas por processo de candidatura pública interna da RACS ou por convite endereçado pelo Conselho Editorial da Revista, das distintas áreas das ciências da saúde, que reflitam a respetiva multidisciplinaridade, e de instituições de ensino superior e de centros de investigação da saúde de diferentes países e comunidades lusófonas.

Conselho Consultivo

O Conselho Consultivo tem como missão a avaliação externa da produção científica publicada pela Revista, e é constituído por individualidades de reconhecido mérito científico, oriundas das distintas áreas das ciências da saúde, evidenciando a multidisciplinaridade, de instituições de ensino superior e de centros de investigação de diferentes países e comunidades lusófonas e ainda, de outras entidades externas à RACS e à lusofonia.

Suporte

A *RevSALUS* é de livre acesso, disponível online, em suporte digital e em suporte de papel.

Política de Patrocínios e Publicidade

A *RevSALUS* poderá assumir um patrocinador e publicidade institucional dos membros associados da RACS e de entidades externas à *Rede*, de natureza comercial ou industrial, preferencialmente fora do âmbito da saúde.

RevSALUS

Ficha Técnica

RevSALUS

Revista Científica Internacional
da RACS

Periodicidade

Quadrimestral

ISSN

2184-4860

eISSN

2184-836X

Depósito legal

455790/19

Design

João Teles

Paula Cruz

Edição do Inglês

Marta Patrício

Publicação da *RevSALUS* na página
electrónica da RACS

<http://www.revsalus.com>

Publicação integral, em acesso
aberto, de todos os números e
artigos da revista

Endereço e contactos

RACS, Edifício INOPOL,

Campus da Escola Superior Agrária,

Instituto Politécnico de Coimbra,

Quinta da Bencanta, 3045-601

Coimbra

Telefone: (+351) 239 802 350

Telemóvel: (+351) 915 677 972

Email: geral.revsalus@racslusofonia.org

Site: <http://racslusofonia.org>

Sumário

- 7** O uso da Inteligência Artificial (IA): ferramenta revolucionária ou ilusão bem vendida? O posicionamento editorial da RevSALUS na escrita de artigos científicos
- 12** A Prevalência e os Fatores associados à Ansiedade em Estudantes Universitários em Benguela - Angola
- 27** Padrões epigenéticos das DNMTs e alterações estruturais da retina na Degenerescência Macular da Idade
- 44** Quantificação de células totais no líquido cefalorraquidiano: Poderá o Alinity hq ser uma alternativa eficaz?
- 55** Intervenções de Enfermagem para a gestão da dor pós-transplante hepático: Revisão Integrativa da Literatura
- 65** Efeitos das Intervenções Nutricionais na Sintomatologia da Perturbação do Espectro do Autismo: Revisão Sistemática da Literatura
- 86** Prevalência da ansiedade e depressão em pacientes com Doença Inflamatória Intestinal: Revisão Sistemática da Literatura
- 102** Protocolo de treino de equilíbrio com BlazePod® na doença de Parkinson: estudo de caso
- 119** Estamos a aproveitar todo o potencial da osteopatia no sistema de saúde? Revisão Narrativa Crítica
- 133** Normas de publicação da *RevSALUS*





Rede Académica das Ciências da Saúde da Lusofonia



<http://racslusofonia.org>

RACS, Edifício INOPOL – Campus da Escola Superior Agrária,
Quinta da Bencanta, Instituto Politécnico de Coimbra, 3045-601
Coimbra, Portugal

(+351) 239 802 350 | (+351) 915 677 972
geral@racslusofonia.org



O uso da Inteligência Artificial (IA): ferramenta revolucionária ou ilusão bem vendida? O posicionamento editorial da *RevSALUS* na escrita de artigos científicos

The use of Artificial Intelligence (AI): revolutionary tool or well-sold illusion? *RevSALUS* editorial position in the writing of scientific articles

Ricardo Jorge Dinis-Oliveira^{1,2,3,4*} 

¹Laboratório Associado i4HB - Instituto de Saúde e Bioeconomia, Instituto Universitário de Ciências da Saúde - CESPU, 4585-116 Gandra, Portugal.

²UCIBIO - Unidade de Biociências Moleculares Aplicadas, Laboratório de Investigação em Toxicologia Translacional, Instituto Universitário de Ciências da Saúde (1H-TOXRUN, IUCS-CESPU), 4585-116 Gandra, Portugal.

³Departamento de Ciências da Saúde Pública e Forenses e Educação Médica, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, 4200-319 Porto, Portugal.

⁴FOREN – Especialistas em Ciência Forense, 1400-136 Lisboa, Portugal

*Autor correspondente/Corresponding author: ricardo.dinis@iucs.cespu.p

RESUMO

É imperativo reafirmar a integridade científica como um princípio inegociável. A ciência não pode ser moldada para servir interesses económicos, políticos ou ideológicos, sob pena de perder a sua função primordial: a produção de conhecimento rigoroso, verificável e orientado para o bem comum. Pugnar pela integridade científica implica garantir transparência em todas as etapas do processo de investigação, desde o financiamento e desenho dos estudos até à análise e comunicação dos resultados. Implica também reforçar mecanismos de revisão por pares independentes, declarar e gerir conflitos de interesse de forma inequívoca e promover uma cultura académica assente na responsabilidade e no pensamento crítico. Num tempo em que novas ferramentas, como a inteligência artificial, potenciam tanto a criação como a distorção de conhecimento, a defesa da integridade científica não é apenas desejável — é essencial. Só assim será possível preservar a confiança na ciência e assegurar que esta continua a servir a sociedade com rigor, ética e responsabilidade. Neste editorial pretende-se refletir sobre o posicionamento da *RevSALUS* quanto ao uso da Inteligência Artificial na escrita científica.

A inteligência artificial (IA) entrou de forma rápida e disruptiva no ecossistema da saúde e da investigação científica. Desde algoritmos de apoio à decisão clínica até modelos generativos capazes de produzir texto científico coerente, a promessa é clara: maior eficiência, rapidez e potencial democratização do conhecimento. No entanto, como frequentemente sucede com tecnologias emergentes, o entusiasmo tende a antecipar a evidência, levantando questões críticas sobre rigor, autoria e responsabilidade científica.

No contexto editorial, esta transformação impõe uma reflexão urgente. A utilização de IA na produção de artigos científicos já não é uma possibilidade futura — é uma realidade presente. Perante este cenário, a *RevSALUS* adota uma posição clara: a IA pode ser uma ferramenta útil de apoio, mas não deve substituir o pensamento crítico, a autoria intelectual nem a responsabilidade científica dos investigadores.

ABSTRACT

It is imperative to reaffirm scientific integrity as a non-negotiable principle. Science cannot be shaped to serve economic, political, or ideological interests; otherwise, it will lose its primary function: the production of rigorous, verifiable knowledge oriented towards the common good. Striving for scientific integrity means ensuring transparency at every stage of the research process, from funding and study design to analysis and the communication of results. It also involves strengthening independent peer-review mechanisms, declaring and managing conflicts of interest unambiguously, and promoting an academic culture grounded in accountability and critical thinking. At a time when new tools, such as artificial intelligence, enhance both the creation and distortion of knowledge, the defense of scientific integrity is not only desirable — it is essential. Only in this way will it be possible to preserve trust in science and ensure that it continues to serve society with rigor, ethics, and responsibility. This editorial intends to reflect *RevSALUS*'s position regarding the use of Artificial Intelligence in scientific writing.

Artificial intelligence (AI) has rapidly and disruptively entered the healthcare and scientific research ecosystems. From clinical decision-support algorithms to generative models capable of producing coherent scientific text, the promise is clear: greater efficiency, speed, and the potential democratization of knowledge. However, as is often the case with emerging technologies, enthusiasm tends to anticipate the evidence, raising critical questions about rigor, authorship, and scientific responsibility.

In the context of the editorial, this transformation requires urgent reflection. The use of AI in the production of scientific articles is no longer a future possibility — it is a present reality. Against this backdrop, *RevSALUS* takes a clear stance: AI can be a useful support tool, but it should not replace critical thinking, intellectual authorship or the scientific responsibility of researchers.

The use of AI can bring relevant **advantages**. Firstly, it can improve the clarity and quality of writing, especially for non-native authors of the language of publication (Celik, 2025). Second, it can facilitate the organization of ideas, the synthesis of information, and even support initial literature reviews.



A utilização de IA pode trazer **vantagens** relevantes. Em primeiro lugar, pode melhorar a clareza e qualidade da escrita, especialmente para autores não nativos na língua de publicação. Em segundo, pode facilitar a organização de ideias, a síntese de informação e até apoiar revisões iniciais da literatura. Em terceiro, pode contribuir para a eficiência do processo científico, reduzindo tempo despendido em tarefas técnicas e permitindo maior foco na análise e interpretação dos dados. Neste sentido, a IA pode ser vista como um instrumento de capacitação, quando usada de forma transparente e crítica. Entre as ferramentas de IA mais comuns, integradas, no processo de escrita científica, destaca-se o ChatGPT, amplamente utilizado para estruturar ideias, reformular parágrafos e melhorar a clareza da escrita. De forma semelhante, o Grammarly e o DeepL Write são ferramentas eficazes na revisão linguística, permitindo corrigir erros gramaticais e estilísticos, bem como adaptar o tom do texto ao contexto acadêmico. No apoio à pesquisa científica e à síntese da literatura, ferramentas como o Elicit e o Consensus facilitam a identificação de artigos relevantes, a extração de conclusões principais e a organização da evidência científica. Já o Scite permite analisar citações de forma mais crítica, indicando se um determinado estudo apoia ou contradiz uma afirmação.

Contudo, estas vantagens coexistem com **limitações** significativas que não podem ser ignoradas. Modelos de IA generativa são conhecidos por produzir conteúdo plausível, mas potencialmente incorreto, incluindo referências inexistentes, interpretações errôneas ou simplificações abusivas. Acresce que estes sistemas não têm responsabilidade ética nem compreensão contextual real, funcionando com base em padrões estatísticos e não em conhecimento validado. A utilização acrítica de IA pode, assim, comprometer a integridade científica, sobretudo quando o conteúdo gerado não é devidamente verificado pelos autores.

Mais preocupante ainda é o risco de erosão da autoria científica. Um artigo totalmente gerado por IA suscita questões fundamentais: quem é o verdadeiro autor? Quem garante a veracidade dos dados? Quem responde por eventuais erros ou omissões? Na nossa perspetiva, é o autor que se propõe a publicar. A ciência assenta na responsabilidade individual e coletiva, na rastreabilidade do conhecimento e na transparência metodológica — princípios que não são compatíveis com a delegação integral da produção científica a sistemas automatizados.

Neste enquadramento, a *RevSALUS* estabelece os seguintes princípios orientadores: (1) a utilização de ferramentas de IA deve ser sempre declarada de forma explícita; (2) os autores são integralmente responsáveis por todo o conteúdo submetido, independentemente do recurso a IA; (3) a IA não pode ser considerada autora nem coautora de trabalhos científicos; e (4) não serão aceites artigos cuja produção seja predominantemente ou integralmente gerada por IA sem contributo intelectual substancial dos autores.

Este posicionamento não representa uma rejeição da inovação (muito pelo contrário), mas sim uma defesa da qualidade científica. A história da ciência mostra que novas ferramentas — da estatística avançada à bioinformática — foram integradas com sucesso quando enquadradas por princípios éticos e metodológicos sólidos. A IA não deve ser exceção.

A emergência de ferramentas de deteção de texto gerado

Third, it can improve the efficiency of the scientific process by reducing time spent on technical tasks and enabling greater focus on data analysis and interpretation. In this sense, AI can be seen as an instrument of empowerment when used in a transparent and critical way. Among the most common AI tools integrated into the scientific writing process, ChatGPT stands out, widely used to structure ideas, reformulate paragraphs, and improve writing clarity. Similarly, Grammarly and DeepL Write are effective tools for linguistic proofreading, allowing users to correct grammatical and stylistic errors and adapt the tone of the text to the academic context. In support of scientific research and the synthesis of literature, tools such as Elicit and Consensus facilitate the identification of relevant articles, the extraction of key conclusions, and the organization of scientific evidence. Scite, on the other hand, allows you to analyze citations more critically, indicating whether each study supports or contradicts a given statement.

However, these advantages coexist with significant **limitations** that cannot be ignored. Generative AI models are known to produce plausible but potentially incorrect content, including non-existent references, misinterpretations, or abusive simplifications. Moreover, these systems lack ethical accountability and a genuine understanding of context, operating on statistical standards rather than validated knowledge. The uncritical use of AI can thus undermine scientific integrity, especially when the generated content is not properly verified by the authors. Also concerning is the fact that the increase in AI-generated publications can exacerbate an "infodemic" of potentially unreliable or misleading information, especially in a "publish or perish" culture context (Arzilli et al., 2025).

Even more worrying is the risk of erosion of scientific authorship. A fully AI-generated article raises fundamental questions: who is the real author? Who guarantees the veracity of the data? Who is responsible for any errors or omissions? From our perspective, the author proposes to publish. In fact, there is consensus that human authors are fully responsible for all content submitted, regardless of the use of AI. Science is based on individual and collective responsibility, traceability of knowledge, and methodological transparency — principles that are not compatible with the full delegation of scientific production to automated systems. The analysis of 100 high-impact journals showed that 96-98% prohibits the inclusion of generative AI as an author. This is a consensus position among the main health journals (Ganjavi et al., 2024).

In this framework, *RevSALUS* establishes the following guiding principles: (1) the use of AI tools must always be explicitly stated; (2) authors are fully responsible for all content submitted, regardless of the use of AI; (3) AI cannot be considered an author or co-author of scientific work; and (4) articles whose production is predominantly or entirely generated by AI without substantial intellectual input from the authors will not be accepted.

This position does not represent a rejection of innovation (quite the contrary), but rather a defense of scientific quality. The history of science shows that new tools — from advanced statistics to bioinformatics — have been successfully integrated when framed by sound ethical and methodological principles.

por IA representa uma resposta tecnológica a um problema tecnológico. Contudo, a sua fiabilidade permanece limitada, devendo os resultados obtidos ser interpretados com cautela. Mais do que confiar em algoritmos para aferir autoria, a integridade científica deve assentar na responsabilidade dos investigadores, na transparência dos processos e no rigor da avaliação editorial.

Em última análise, a questão não é se a IA é uma ferramenta revolucionária ou uma ilusão bem vendida, mas sim como escolhemos utilizá-la. A formulação de *prompts* claros, específicos e fundamentados é um elemento central para a obtenção de resultados relevantes e rigorosos. Questionar bem uma ferramenta de IA exige domínio conceptual, capacidade crítica e intencionalidade científica. Um *prompt* vago tenderá a gerar respostas genéricas; um *prompt* bem construído, pelo contrário, pode conduzir a outputs mais úteis, contextualizados e alinhados aos objetivos do autor. Ou seja, é preciso saber-se para se questionar corretamente. Quando integrada de forma crítica, transparente e responsável, pode potenciar o avanço científico. Quando usada como substituto do pensamento humano, arrisca-se a fragilizar os alicerces da investigação.

A ciência não precisa apenas de mais produção em massa — precisa de melhor produção. E essa continuará a depender, inevitavelmente, do julgamento, da ética e da responsabilidade dos seus autores. Paralelamente, importa reconhecer um risco mais profundo e estrutural: o uso da ciência como instrumento para legitimar interesses pré-definidos. A história recente oferece exemplos paradigmáticos em que evidência científica foi seletivamente produzida, interpretada ou comunicada para sustentar a segurança de determinados compostos, incluindo substâncias com potencial toxicidade relevante, como o glifosato. Nestes contextos, a ciência deixa de ser um processo de busca pela verdade para se tornar uma ferramenta de validação estratégica, frequentemente apoiada por financiamento orientado, desenho de estudos favorável e amplificação de conclusões convenientes. Este fenómeno levanta sérias preocupações quanto à integridade da produção científica e à confiança pública. Num cenário em que ferramentas de IA podem acelerar a geração e disseminação de conteúdos científicos, o risco de amplificação deste tipo de viés torna-se ainda mais significativo. Reforça-se, assim, a necessidade de escrutínio rigoroso, transparência nos conflitos de interesse e responsabilidade ética na interpretação e comunicação dos dados científicos.

O ano de 2025 continuou a marcar de forma evidente a trajetória de crescimento e reconhecimento desta revista científica na investigação em diversas áreas da saúde ou a elas aplicadas.

Esta realidade resultou na publicação, em 2025, de três números regulares e três números suplementares. Dos 32 artigos publicados nas edições regulares, 50% correspondem a estudos primários, 34% a artigos de revisão ou protocolos, e 16% a artigos breves e casos clínicos. A taxa de rejeição (59%) de artigos foi o resultado do rigor no escrutínio científico aplicado às submissões propostas para a revista.

Os três números temáticos editados em 2025 compilam os trabalhos científicos apresentados no Congresso Internacional de Investigação em Enfermagem NursID 2023 e 2024, no VI

AI should be no exception.

The emergence of AI-generated text detection tools represents a technological response to a technological problem. However, its reliability remains limited, and the results obtained should be interpreted with caution. More than relying on algorithms to assess authorship, scientific integrity must be grounded in researchers' responsibility, transparency in processes, and the rigor of editorial evaluation.

Ultimately, the question is not whether AI is a revolutionary tool or a well-selling illusion, but rather how we choose to use it. The formulation of clear, specific, and reasoned prompts is a central element for obtaining relevant and rigorous results (Luo et al., 2025). Questioning an AI tool well requires conceptual mastery, critical capacity, and scientific intentionality. A vague *prompt* will tend to generate generic responses; a well-constructed *prompt*, on the contrary, can lead to more useful outputs that are contextualized and aligned with the author's goals. In other words, it is necessary to know "how" and "what" to question. When integrated in a critical, transparent, and responsible way, it can enhance scientific advancement. When used as a substitute for human thought, it risks weakening the foundations of research.

Science does not just need more mass production—it needs better production. And this will inevitably depend on the judgment, ethics, and responsibility of its authors. At the same time, it is important to recognize a deeper, more structural risk: the use of science as an instrument to legitimize predefined interests. Recent history offers paradigmatic examples of cases in which scientific evidence has been selectively produced, interpreted, or communicated to support the safety of certain compounds, including substances with significant toxicity potential, such as the herbicide glyphosate (Smith-Roe et al., 2026). In these contexts, science ceases to be a truth-seeking process and becomes a tool for strategic validation, often supported by targeted funding, favorable study design, and the amplification of convenient conclusions. This phenomenon raises serious concerns about the integrity of scientific production and public trust. In a scenario where AI tools can accelerate the generation and dissemination of scientific content, the risk of amplifying this bias becomes even greater. This reinforces the need for rigorous scrutiny, transparency in conflicts of interest, and ethical responsibility in the interpretation and communication of scientific data.

The year 2025 continued to clearly mark the growth and recognition trajectory of this scientific journal in research in various areas of health and life sciences. This reality led to the publication of three regular issues and three supplementary issues in 2025. Of the 32 articles published in the regular editions, 50% correspond to primary studies, 34% to review articles or protocols, and 16% to brief articles and clinical cases. The rejection rate (59%) of articles was due to the rigorous scientific scrutiny applied to the submissions submitted to the journal. The three thematic issues published in 2025 compile the scientific papers presented at the NursID International Congress on Nursing Research 2023 and 2024, at the VI Congress of the Portuguese Association of Forensic Sciences, and at the II LusoSaúde Conferences – Lusophone Health Scientific Conferences.

Congresso da Associação Portuguesa de Ciências Forenses e nas II Jornadas LusoSaúde – Jornadas Científicas de Saúde da Lusofonia.

No que se refere à indexação, embora em 2025 não tenha ocorrido a integração da *RevSALUS* em nenhuma nova base de dados, deu-se continuidade aos esforços para concluir a disponibilização do catálogo da revista na Coleção Scielo Portugal, ação que deverá ser alcançada ao longo do ano de 2026.

Dando ainda continuidade a uma conquista alcançada em 2025, com a aprovação da candidatura ao SARC – Serviço de Alojamento de Revistas Científica, neste ano de 2026 a *RevSALUS* passará por uma mudança na sua plataforma de gestão editorial e ficará alojada nesse serviço nacional, disponibilizado no âmbito do projeto PUB IN.

Este breve balanço reforça o compromisso da *RevSALUS* com o rigor, a qualidade e a integridade científica, posicionando-se como referência no plano internacional, em particular no espaço lusófono.

Deixo, por último, um sincero agradecimento do Conselho Editorial da *RevSALUS*, aos revisores e aos autores, que em 2025, viram na *RevSALUS* a plataforma para disseminação do conhecimento científico.

Regarding indexing, although in 2025 *RevSALUS* was not integrated into any new database, efforts were made to complete the availability of the journal's catalog in the Scielo Portugal Collection, an action that should be completed throughout 2026.

Also continuing an achievement achieved in 2025, with the approval of the application to SARC – Scientific Journal Hosting Service, in this year 2026 *RevSALUS* will undergo a change in its editorial management platform and will be hosted in this national service, made available under the PUB IN project.

This brief assessment reinforces *RevSALUS* commitment to rigor, quality, and scientific integrity, positioning itself as a reference at the international level, particularly in the Portuguese-speaking space.

Finally, on behalf of the *RevSALUS* Editorial Board, I would like to express my sincere thanks to the reviewers and authors who, in 2025, saw in *RevSALUS* a platform for the dissemination of scientific knowledge.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- Arzilli G, Di Maggio E, De Angelis L, Baglivo F, Savoia E, Privitera GP and Rizzo C. A surge of AI-driven publications: the impact on health professionals and potential mitigating solutions. *Front Public Health* **13**:1680630, 2025
- Celik SU. Integrating artificial intelligence into scientific writing: a narrative review for clinical and surgical researchers. *Am J Surg* **250**:116657, 2025
- Ganjavi C, Eppler MB, Pekcan A, Biedermann B, Abreu A, Collins GS, Gill IS and Cacciamani GE. Publishers' and journals' instructions to authors on use of generative artificial intelligence in academic and scientific publishing: bibliometric analysis. *Bmj* **384**:e077192, 2024
- Luo F, Zhang J, Wang Q and Yang C. Leveraging Prompt Engineering in Large Language Models for Accelerating Chemical Research. *ACS Cent Sci* **11**:511–519, 2025
- Smith-Roe SL, DeVito MJ, Co C, Ramaiahgari SC, Easterling M, Rice JR, Dunlap PE, Crizer DM, Zhou Z, Merrick BA, Xie G, Harris SF, Shockley KR, Tandon A, Oktay A, Mav D, Shah R, Borrel A, Gombar V, Masten SA, Paules RS and Ferguson SS. Comparative investigation of the potential of glyphosate and glyphosate-based formulations to cause oxidative stress and DNA damage in human skin and liver cell systems. *Toxicol Sci* **209**, 2026



Rede Académica
das Ciências da Saúde
da Lusofonia

MOTUS

Programa de Mobilidade Académica Internacional da
Rede Académica das Ciências da Saúde da Lusofonia



Promover a mobilidade internacional de estudantes, recém graduados, docentes, investigadores e funcionários não docentes/não investigadores entre instituições de ensino superior e centros de investigação, no âmbito das ciências da saúde, nos países e comunidades da Lusofonia, incentivando a difusão do conhecimento científico e cultural.

Contactos: e-mail: motus@racslusofonia.org | website: [http:// www.racslusofonia.org](http://www.racslusofonia.org)

A Prevalência e os Fatores associados à Ansiedade em Estudantes Universitários em Benguela - Angola

The Prevalence and Factors Associated with Anxiety in University Students in Benguela - Angola

Teotónio Gumbe^{1,2} , Telma Serafim¹ , Bernardo Luís¹ , Cristóvão Ndumbo¹ , Belmira Chiaia¹ , Paulo Alves^{1,2,3} 

¹Instituto Superior Politécnico Jean Piaget de Benguela, Benguela, Angola

²Universidade Jean Piaget de Angola, Mulenvos, Angola

³Insight - Piaget Research Center for Ecological Human Development, Portugal

*Autor correspondente/Corresponding author: teotonionicolaugumbe.academic@gmail.com

Recebido/Received: 04-09-2025; Revisto/Revised: 08-01-2026; Aceite/Accepted: 22-01-2026

Resumo

Introdução: O ensino superior tem um nível de exigência diferente dos demais ciclos de ensino, pelas características da sua natureza, desafios e crenças que lhe estão associadas. Dada a importância da saúde mental para o desenvolvimento do potencial académico e bem-estar dos estudantes, assim como a ausência de indicadores credíveis no contexto angolano, tem aumentado a valorização da produção científica neste domínio. **Objetivos:** Identificar a prevalência e analisar os fatores associados à ansiedade em estudantes universitários em Benguela. **Material e Métodos:** Estudo de natureza exploratória, com recurso a dados quantitativos. Participaram no estudo 447 estudantes do Instituto Superior Politécnico Jean Piaget de Benguela e da Faculdade de Medicina da Universidade Katyavala Bwila selecionados por conveniência, sendo maioritariamente do género feminino (51,46%). Para a recolha de dados utilizou-se o Beck Anxiety Inventory e um questionário sociodemográfico. **Resultados:** Confirma-se que a prevalência da ansiedade (26%), tal como em outros estudos, aparece num valor moderado. As diferenças estatisticamente significativas confirmam-se entre os níveis mais altos de ansiedade e o género ($p=0,000$), o ambiente familiar stressante e difícil de suportar ($p=0,000$), o apoio emocional familiar ($p=0,000$), o diagnóstico de uma perturbação mental ($p=0,000$), o diagnosticado de ansiedade em familiares ($p=0,000$), a doença crónica ($p=0,000$), o desgaste psicológico ($p=0,000$) e a qualidade de sono e a prática de exercícios físicos ($p=0,002$). **Conclusão:** Alinhada com a literatura científica, evidencia-se o facto dos estudantes universitários em Benguela se sentirem psicologicamente desgastados, com necessidade de apoio e intervenção psicológica, orientada para a promoção dos níveis de saúde mental e, particularmente, para reduzir os níveis de ansiedade.

Palavras-chave: Ansiedade; estudantes universitários; saúde mental; bem-estar.

Abstract

Introduction: Higher Education is more demanding than other educational cycles, due to the characteristics of its own nature, challenges and beliefs associated with it. Considering the importance of mental health for the development of students' academic potential and well-being, as well as the lack of credible indicators in the Angolan context, scientific production in this field has become increasingly important. **Objectives:** To identify the prevalence and analyze the factors associated with anxiety in university students in Benguela. **Material and Methods:** An exploratory study using quantitative data. A total of 447 students from the Instituto Superior Politécnico Jean Piaget de Benguela and the Faculty of Medicine at Universidade Katyavala Bwila, selected for convenience, took part in the study, the majority of whom were female (51.46%). The Beck Anxiety Inventory and a sociodemographic questionnaire were used to collect the data. **Results:** It is confirmed that the prevalence of anxiety (26%), as in other studies, appears at a moderate value. Statistically significant differences were found between higher levels of anxiety and gender ($p=0.000$), stressful and difficult family environment ($p=0.000$), family psychological support ($p=0.000$), diagnosis of a mental disorder ($p=0.000$), diagnosis of anxiety in family members ($p=0.000$), chronic illness ($p=0.000$), psychological worn out ($p=0.000$) and quality of sleep and physical exercise ($p=0.002$). **Conclusion:** In line with the scientific literature, it is clear that university students in Benguela feel psychologically distressed and need psychological support and intervention aimed at promoting mental health and, in particular, reducing anxiety levels.

Keywords: Anxiety; university students; mental health; well-being.

1. INTRODUÇÃO

A ansiedade pode ser considerada como uma resposta emocional, caracterizada por uma antecipação a uma ameaça futura (APA, 2014), sendo que envolve “*elementos experienciais, comportamentais e fisiológicos, por meio do qual um indivíduo tenta lidar com um assunto ou evento pessoalmente significativo*” (APA, 2015, p. 362). A ansiedade, que tem como finalidade a adaptação do indivíduo a uma determinada situação, pode tornar-se numa condição de sofrimento clinicamente significativo, persistente e que afeta pelo menos uma das áreas de funcionamento do sujeito (APA, 2014).

Nas últimas décadas tem-se verificado um aumento da prevalência de perturbações psicológicas, com particular atenção para as perturbações da ansiedade e do humor (Gkitakou *et al.*, 2025). Estima-se que uma em cada oito pessoas esteja acometida por uma perturbação psicológica, sendo que a ansiedade patológica é uma das que mais afeta os seres humanos (WHO, 2022). As perturbações de ansiedade em adultos têm uma prevalência de 27,4%, sendo que o género mais afetado é o feminino (Costa *et al.*, 2019).

O contexto universitário revela-se desafiador para os estudantes, caracterizado por um modelo muito diferente dos outros níveis de ensino e com um grau de exigência maior. Neste sentido, os estudantes universitários podem constituir uma população com maior prevalência de ansiedade, do que a população em geral, sendo que o desempenho académico destes pode ser afetado por esta perturbação mental (Bernardelli *et al.*, 2022). Uma parte considerável dos estudantes universitários no contexto angolano têm de estudar e trabalhar ao mesmo tempo (Miguel & Ribeiro, 2025), realidade que pode ampliar os desafios e consequentemente a estabilidade funcional. A revisão da literatura aponta globalmente para a inexistência de relações estatisticamente significativas entre a condição de estudante trabalhador e os níveis de ansiedade apresentados (Oliveira, 2017), mas os estudantes trabalhadores estão significativamente associados a níveis mais elevados de stress (Marchini *et al.*, 2019). Os estudantes trabalhadores tendem a ter menos horas de descanso, tempo de estudo reduzido, alimentação inapropriada e poucas horas de sono, variáveis que estão associadas a um desempenho académico mais baixo (Pereira *et al.*, 2016).

Inúmeros fatores têm sido associados à ansiedade dos estudantes universitários, entre os quais, o género, a faixa etária, o estado civil, os problemas associados ao sono, o tempo diário gasto nas redes sociais, os pensamentos suicidas, a obesidade, as doenças crónicas, a prática de actividades físicas, o tipo de relacionamento com os pais, o período de realização de exames (Alves *et al.*, 2021; Hossain *et al.*, 2022; Martinez-Libano *et al.*, 2023; Rahman *et al.*, 2023; Wahed & Hassan, 2017). Por exemplo, os estudantes universitários com sintomas de ansiedade generalizada têm quatro vezes mais probabilidades de ter menor qualidade de sono (Souza *et al.*, 2022).

A família, frequentemente considerada como rede de suporte social, pode contribuir significativamente para o bem-estar psicológico dos seus membros (Jaris *et al.*, 2025). Os membros de famílias disfuncionais e com pouca qualidade de vida estão mais associados às perturbações de ansiedade (Wang *et al.*, 2016). Neste domínio, a região sul de Angola, em que se enquadra Benguela, as famílias são caracterizadas por

1. INTRODUCTION

Anxiety can be considered an emotional response, characterized by an anticipation of a future threat (APA, 2014), involving “*experiential, behavioral, and physiological elements through which an individual attempts to cope with a personally significant issue or event*” (APA, 2015, p. 362). Anxiety, whose purpose is to help the individual adapt to a particular situation, can become a condition of clinically significant, persistent suffering that affects at least one of the subject's areas of functioning (APA, 2014).

Recently the prevalence of psychological disorders has increased, with particular attention to anxiety and mood disorders (Gkitakou *et al.*, 2025). It is estimated that one in eight people is affected by a psychological disorder, with pathological anxiety being one of the most common (WHO, 2022). Anxiety disorders in adults have a prevalence of 27.4%, and the most affected gender is female (Costa *et al.*, 2019).

The university context proves to be challenging for students, being characterized by a very different model from other levels of education and with a higher degree of demand. In this sense, university students may be a population with a higher prevalence of anxiety than the general population, and their academic performance may be affected by this mental disorder (Bernardelli *et al.*, 2022). A considerable proportion of university students in the Angolan context have to study and work at the same time (Miguel & Ribeiro, 2025), a reality that can increase the challenges and, consequently, functional stability. The literature review globally points to the absence of statistically significant relationships between the condition of working students and the levels of anxiety presented (Oliveira, 2017), but working students are significantly associated with higher levels of stress (Marchini *et al.*, 2019). Working students tend to have fewer hours of rest, reduced study time, inappropriate diet and few hours of sleep, variables that are associated with lower academic performance (Pereira *et al.*, 2016).

A large number of factors have been associated with anxiety among university students, including gender, age group, marital status, low sleep quality, daily time spent on social networks, suicidal thoughts, obesity, chronic illnesses, physical activity, the type of relationship with parents, and exam periods (Alves *et al.*, 2021; Hossain *et al.*, 2022; Martinez-Libano *et al.*, 2023; Rahman *et al.*, 2023; Wahed & Hassan, 2017);

For example, university students with symptoms of generalized anxiety are four times more likely to have poorer sleep quality (Souza *et al.*, 2022).

Family, often considered a social support network, can contribute significantly to the psychological well-being of its members (Jaris *et al.*, 2025). Members of dysfunctional families and poor quality of life are more associated with anxiety disorders (Wang *et al.*, 2016). In this way, in the southern region of Angola, which includes Benguela, families are characterized by a larger size (extended family) (Bahu, 2018), in which parents, children, grandparents and cousins live together and there is a great deal of family involvement in solving the problems of family members (Simões & Alberto, 2015; Ngoma, 2023), although it is recognized that this trend has been decreasing in recent times throughout the country, considering the

uma dimensão maior (família extensa) (Bahu, 2018), em que coabitam os pais, os filhos, os avós e os primos e há um grande envolvimento das famílias na resolução dos problemas dos membros que a constituem (Simões & Alberto, 2015; Ngoma, 2023), apesar de se reconhecer que esta tendência está a diminuir nos últimos tempos em todo o país, considerando a redução progressiva do agregado familiar (Bahu, 2018; Instituto Nacional de Estatística, 2025). Desse modo, o contexto familiar é particularmente relevante para os benguelenses.

O ensino superior em Angola é marcado por diversos desafios e transformações que acompanham o contexto social que caracteriza o País (AAES, 2023; Filho & Aleaga, 2021). A investigação científica é um dos eixos de maior debilidade no ensino superior do país (Gungula *et al.*, 2024). Na província de Benguela são frequentes os relatos de estudantes universitários que manifestam sintomas como preocupações excessivas com relação a possíveis acontecimentos futuros, tensão muscular, irritabilidade, medo de perder o controlo, entre outros, que tendem a se intensificar nas vésperas do período de exames, o que acaba por afetar, em alguns casos, o desempenho académico destes, sem que se conheça de forma objetiva a prevalência e os fatores que concorrem para estes potenciais sintomas de ansiedade. A inexistência de publicações sobre a ansiedade no contexto da província leva a que os psicólogos limitem-se a citar estudos desenvolvidos fora do país que, embora cumpram com os pressupostos científicos exigidos, carecem tanto de confirmação/infirmiação no contexto quanto de análise das diferenças existentes. Por conseguinte, percebe-se a necessidade e justifica-se o investimento neste estudo, para que se possam alcançar evidências e propostas sobre o estado da saúde mental dos estudantes, apoiando-se o conhecimento, a intervenção e os estudos futuros, com particular ênfase para a ansiedade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Assumi-se uma tipologia de estudo exploratório, com recurso a dados quantitativos. A província de Benguela conta com 27.770 estudantes universitários, o que constitui 8,8% de Angola, sendo a terceira província com maior população estudantil do ensino superior (AAES, 2025). Dos 27.770 estudantes, 13.759 (49,55%) são do género feminino e 14.011 (50,45%) são do masculino (AAES, 2025). Participaram 447 estudantes universitários. A recolha de dados realizou-se nos meses de Maio e Junho de 2025, depois de obtidas as devidas autorizações institucionais e cumprindo-se todos os requisitos éticos. Optou-se por uma amostra não probabilística por conveniência, recolhida em duas instituições do ensino superior da província de Benguela: a Faculdade de Medicina da Universidade Katyavala Bwila (município da Catumbela) e o Instituto Superior Politécnico Jean Piaget de Benguela (Município de Benguela).

2.1 INSTRUMENTO

Utilizou-se o BAI (*Beck Anxiety Inventory*) e um questionário para identificar as variáveis sociodemográficas e avaliar os fatores associados aos níveis de ansiedade. O BAI é um inventário desenvolvido por Beck e adaptado por Quintão *et al.* (2013), que contém 21 sintomas de ansiedade avaliados a partir de uma escala de tipo Likert de 4 pontos (0=absolutamente não; 1=levemente; 2=moderadamente; 3=gravemente).

progressive reduction of the family unit (Bahu, 2018; Instituto Nacional de Estatística, 2025). In this way, family context is particularly relevant for the people of Benguela.

Higher education in Angola is marked by various challenges and transformations resulting from the social context that characterizes the country (AAES, 2023; Filho & Aleaga, 2021). Scientific research is one of the weakest areas of higher education in the country (Gungula *et al.*, 2024).

In the Benguela province, there are frequent reports of university students showing symptoms such as excessive worry about possible future events, muscle tension, irritability, fear of losing control, among others, which tend to intensify before of the exam period. This ends up affecting their academic performance in some cases, without any objective knowledge of the prevalence and factors that contribute to these potential symptoms of anxiety. The lack of publications on anxiety in this region forces psychologists to cite only studies that have been developed outside the country. Although they comply with the scientific assumptions required, they need both confirmation/infirmation in the context and analysis of existing differences. Therefore, there is a need to study these phenomena, which justifies the investment in this study, so that evidence and proposals can be made about the state of students' mental health, supporting knowledge, intervention and future studies, with particular emphasis on anxiety.

2. MATERIAL AND METHODS

This was an exploratory study using quantitative data. Benguela province has 27,770 university students, which is 8.8% of Angola, and is the third province with the largest higher education student population (AAES, 2025). Of the 27,770 students, 13,759 (49.55%) are female and 14,011 (50.45%) are male (AAES, 2025). 447 university students participated in the study. Data collection took place in May and June 2025, after obtaining the appropriate institutional authorizations and complying with all ethical requirements. A non-probabilistic convenience sample was chosen, collected from two higher education institutions in Benguela province: the Faculty of Medicine at Universidade Katyavala Bwila (Catumbela city) and the Instituto Superior Politécnico Jean Piaget de Benguela (Benguela city).

2.1 INSTRUMENT

The BAI (Beck Anxiety Inventory) and a questionnaire were used to identify sociodemographic variables and assess factors associated with anxiety levels. The BAI is an inventory developed by Beck and adapted by Quintão *et al.* (2013), which contains 21 anxiety symptoms assessed using a 4-point Likert scale (0=absolutely not; 1=slightly; 2=moderately; 3=severely).

The sociodemographic questionnaire included closed questions such as age, gender, year of attendance, family income, employment status, area of training and course.

Closed questions were chosen because they were more appropriate and more operational, considering the approach chosen. In addition, questions were asked about potential anxiety factors based on the literature review and with the aim of confirming or disconfirming these in the study population. Although some of the questions seem generic, such as

O questionário sociodemográfico apresenta perguntas fechadas, tais como a idade, o género, o ano de frequência, o rendimento familiar, a condição de emprego, a área de formação e o curso. Optou-se por perguntas fechadas pela maior adequação e operacionalização, considerando a abordagem escolhida. Além disso, foram elaboradas questões sobre os potenciais fatores de ansiedade com base na revisão da literatura feita e com o objetivo de confirmar ou de infirmar estes na população em estudo. Embora algumas questões pareçam genéricas, como é o caso da questão “consideras que a sua qualidade de vida diminuiu nos últimos tempos?”, estas são colocadas de forma intencional, considerando que a população de Benguela vivencia a depreciação da moeda oficial de Angola (Eliote, 2025), o que pode afetar diretamente o poder de compra e a qualidade de vida dos estudantes universitários.

2.2 PROCEDIMENTOS

Cumprindo-se os procedimentos de natureza científica e ética necessários, antes e durante a concretização do estudo, que começou por se submeter o projeto, que foi avaliado e aprovado pelo Comité de Ética do Instituto Superior Politécnico Jean Piaget de Benguela. Submeteram-se cartas a solicitar a devida autorização, para a realização da pesquisa, em 7 instituições do ensino superior da província de Benguela, sendo que apenas duas responderam atempadamente: o Instituto Superior Politécnico Jean Piaget de Benguela e a Faculdade de Medicina da Universidade Katyavala Bwila.

Na recolha de dados distribuiu-se o consentimento livre e informado, esclareceu-se o direito à (não) participação, o direito à desistência e os possíveis efeitos da participação na pesquisa.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Terminado o processo de recolha de dados, fez-se a inserção dos dados no EXCEL e transportaram-se posteriormente para o SPSS (versão.20) para a análise e interpretação dos dados, com recurso aos testes e valores de *Kolmogorov-Smirnov*, *Mann Whitney*, *Kruskal-Wallis* e *Alpha de Cronbach*. Os testes supracitados justificam-se pela necessidade de suporte estatístico globalmente aceites pela comunidade académica para garantir a cientificidade dos resultados. O teste *Kolmogorov-Smirnov* foi utilizado para avaliar a normalidade das variáveis. Considerando a anormalidade da distribuição dos dados, optou-se pelos testes de *Mann Whitney* e de *Kruskal-Wallis* para avaliar a relação entre variáveis dependentes e as variáveis independentes. A inexistência de estudos que tivessem utilizado o BAI e que confirmassem a consistência interna do instrumento para a população em estudo levou os autores à utilização do teste de *Alpha de Cronbach* para garantir o cumprimento deste pressuposto.

3. RESULTADOS

A análise dos dados obtidos passa a ser apresentada, sendo que a primeira corresponde à estatística descritiva e a segunda à estatística inferencial.

Na caracterização geral da amostra (Tab.1) quanto à faixa etária, 51,15% dos estudantes tinham entre 18 a 22 anos, 40,37% entre 23 a 27, 5,28% entre 28 a 32 e 3,21% tinham idade igual ou superior a 33 anos. Relativamente ao género, 51,46% dos sujeitos

the question “Do you consider that your quality of life has decreased in recent times?”, these were asked intentionally, considering that the population of Benguela is experiencing the depreciation of Angola's official currency (Eliote, 2025), which could directly affect university students' purchasing power and quality of life.

2.2 PROCEDURES

The necessary scientific and ethical procedures were followed before and during the study, which began by submitting the project, which was assessed and approved by the Ethics Committee of the Instituto Superior Politécnico Jean Piaget de Benguela. Letters requesting permission to carry out the research were sent to seven higher education institutions in Benguela province, only two of which responded in good time: the Instituto Superior Politécnico Jean Piaget de Benguela and the Faculty of Medicine at Universidade Katyavala Bwila.

During data collection, free and informed consent was distributed, and the right to (non-)participation, the right to withdraw and the possible effects of participating in the research were explained.

2.4 STATISTICAL ANALYSIS

Once the data collection process was complete, the data was entered into EXCEL and then transferred to SPSS (version .20) for data analysis and interpretation, using the *Kolmogorov-Smirnov*, *Mann Whitney*, *Kruskal-Wallis* and *Cronbach's Alpha* tests and values. The tests are justified by the need for statistical support that is globally accepted by the academic community in order to ensure the scientificity of the results. The *Kolmogorov-Smirnov* test was used to assess the normality of the variables. Considering the abnormality of the data distribution, the *Mann-Whitney* and *Kruskal-Wallis* tests were used to assess the relationship between dependent and independent variables. The lack of studies using BAI and the need to confirm the internal consistency of the instrument for the population under study led the authors to use the *Cronbach's Alpha* test to ensure compliance with this assumption.

3. RESULTS

The analysis of the data is presented below, with the first corresponding to descriptive statistics and the second to inferential statistics.

In terms of the general characterization of the sample (Table 1), 51.15% of the students were aged between 18 and 22, 40.37% between 23 and 27, 5.28% between 28 and 32 and 3.21% were aged 33 or over. With regard to gender, 51.46% of the subjects were female and 48.54% male. With regard to employment, 72.96% of the students were not employed, while 27.04% were. With regard to monthly family income, 30.50% had a family income of between 100,000Kzs and 200,000Kzs, 17.66% had between 300,000Kzs and 400,000Kzs, 16.06% had less than 100,000Kzs, 15.37% had between 200,000Kzs and 300,000Kzs, 12.39% had more than 600,000Kzs and 8.03% had between 400,000Kzs and 600,000Kzs.

Regarding the year of attendance, 51.01% of the students were in the 2nd academic year, 23.15% in the 1st year, 11.46% in the 3rd year, 9.66% in the 5th year and 4.72% in the 4th year. As

eram do género feminino e 48,54% do masculino. No que diz respeito à situação de emprego, 72,96% dos estudantes não tinham emprego enquanto 27,04% tinham. No que diz respeito ao rendimento mensal da família, 30,50% tinham o rendimento familiar entre mais de 100.000Kzs a 200.000Kzs, 17,66% tinham entre mais de 300.000Kzs a 400.000Kzs, 16,06% tinham menos de 100.000Kzs, 15,37% tinham entre mais de 200.000Kzs a 300.000Kzs, 12,39% tinham mais de 600.000Kzs e 8,03% entre mais de 400.000Kzs a 600.000Kzs.

No que se refere ao ano de frequência, 51,01% dos estudantes encontravam-se matriculados no 2.º ano, 23,15% no 1.º ano, 11,46% no 3.º ano, 9,66% no 5.º ano e 4,72% no 4.º ano; quanto à área de formação, 52,80% frequentavam cursos de ciências da saúde, 26,17% ciências tecnológicas, 17,90% Sociais e Humanas e 3,13% Ciências da Educação; quanto ao curso, 22,12% dos estudantes frequentavam o curso de Enfermagem e Obstetrícia, 18,51% o curso de Medicina Geral, 8,89% o curso de Engenharia Eletromecânica, 8,65% o curso de Análises Clínicas e Saúde Pública, 8,41% o curso de Psicologia, 7,69% o curso de Arquitetura, 5,05% o curso de Economia e Gestão, 3,85% o curso de Radiologia e Imagiologia, 3,85% o curso Engenharia de Refinação de Petróleo, 3,61% o curso de Engenharia de Construção Civil, 3,61% o curso de Engenharia Informática e Gestão, 1,20% o curso de Ensino do Português e Línguas Nacionais, 0,96% o curso de Ciências da Educação Física, Desporto e Motricidade Humana e 0,48% o curso de Sociologia.

Apesar de a amostra ser constituída por 447 estudantes, constata-se uma variação no valor de n (Tab. 1; Tab. 2) em função do número de sujeitos que responderam às respetivas perguntas.

for the area of training, 52.80% were studying health sciences, 26.17% technological sciences, 17.90% social and human sciences and 3.13% education sciences; as for the course, 22.12% of the students were studying Nursing and Obstetrics, 18.51% General Medicine, 8.89% Electromechanical Engineering, 8.65% Clinical Analysis and Public Health, 8.41% Psychology, 7.69% Architecture, 5.05% Economics and Management, 3.85% Radiology and Imaging, 3.85% Petroleum Refining Engineering, 3.61% Civil Construction Engineering, 3.61% Computer Engineering and Management, 1.20% Portuguese Teaching and National Languages, 0.96% Physical Education, Sport and Human Motricity Sciences and 0.48% Sociology.

Although the sample consisted of 447 students, there was a variation in the value of n (Tab. 1; Tab. 2) depending on the number of subjects who answered the respective questions.

Tabela/Table 1: Características gerais da amostra/General sample characteristics.

Variáveis/Variables	n	%
Faixa Etária/Age Group (n=436)		
18-22	223	51,15%
23-27	176	40,37%
28-32	23	5,28%
33>=	14	3,21%
Género/Gender (n=445)		
Masculino/Male	216	48,54%
Feminino/Female	229	51,46%
Tens um emprego/Do you have a job? (n=429)		
Não/No	313	72,96%
Sim/Yes	116	27,04%
Qual é o rendimento mensal da tua família/ What is your family's monthly income? (n=436)		
Menos de 100.000 kzs/less than 100.000 kzs	70	16,06%
Entre 100.000 a 200.000kzs/Between 100.000 to 200.000kzs	133	30,50%
Entre mais de 200.000kzs to 300.000kzs/Between more than 200.000kzs to 300.000kzs	67	15,37%
Entre mais de 300.000kzs a 400.000kzs/Between more than 300.000kzs to 400.000kzs	77	17,66%
Entre mais de 400.000kzs a 600.000kzs/Between more than 400.000kzs to 600.000kzs	35	8,03%
Mais de 600.000kzs/More than 600.000kzs	54	12,39%
Em que ano te encontras matriculado/ What grade are you in? (n=445)		
1.º Ano/Year	103	23,15%
2.º Ano/Year	227	51,01%
3.º Ano/Year	51	11,46%
4.º Ano/Year	21	4,72%

5.º Ano/Year	43	9,66%
Área de Formação/Training Area (n=447)		
Ciências da Educação/Educational Sciences	14	3,13%
Ciências Sociais e Humanas/Social Sciences and Humanities	80	17,90%
Ciências da Saúde/ Health Sciences	236	52,80%
Ciências Tecnológicas (Engenharias)/ Technological Sciences (Engineering)	117	26,17%
Curso (n=416)		
Análises Clínicas e Saúde Pública/Clinical Analysis and Public Health	36	8,65%
Arquitectura/Architecture	32	7,69%
Engenharia de Construção Civil/Civil Engineering	15	3,61%
Economia e Gestão/Economics and Management	21	5,05%
Engenharia Electromecânica/Electromechanical Engineering	37	8,89%
Enfermagem e Obstetrícia/Nursing and Midwifery	92	22,12%
Engenharia Informática de Gestão/Computer Management Engineering	15	3,61%
Ciências da Educação Física, Desporto e Motricidade Humana/Physical Education, Sports and Human Motricity Sciences	4	0,96%
Ensino do Português e Línguas Nacionais/ Teaching Portuguese and National Languages	5	1,20%
Psicologia/Psychology	35	8,41%
Radiologia e Imagiologia/Radiology and Imaging	16	3,85%
Engenharia de Refinação de Petróleo/Oil Refining Engineering	16	3,85%
Direito/Law	13	3,13%
Sociologia/Sociology	2	0,48%
Medicina Geral/General Medicine	77	18,51%

Relativamente ao stress no ambiente familiar (Tab. 2) confirma-se que 77,48% dos estudantes não consideram o ambiente familiar como fonte de stress contínuo e difícil de suportar, enquanto 22,52% o consideram; quanto ao apoio psicológico, 83,56% dos estudantes consideram a família como fonte de apoio psicológico e apenas 16,44% não a consideram. No que se refere à qualidade de vida, 57,01% dos estudantes consideram que a qualidade de vida deles diminuiu nos últimos tempos enquanto 42,99% não consideram. Relativamente ao diagnóstico de uma perturbação mental, 93% dos participantes nunca foram diagnosticados com uma perturbação mental enquanto 7% já foram. Quanto ao acompanhamento psicológico, 85,10% dos estudantes nunca tiveram acompanhamento psicológico com um profissional da área.

No que diz respeito ao histórico de diagnóstico de ansiedade por parte dos membros da família, 72,40% não têm familiares com diagnóstico de ansiedade enquanto 27,60% afirma que têm; 91,44% dos estudantes não têm doenças crónicas. Quanto aos pensamentos associados à desistência por parte dos estudantes, 47,63% já pensaram em abandonar o curso que frequentam, e no que se refere ao desgaste psicológico, 65,54% dos estudantes sentem-se desgastados psicologicamente, com 65,25% dos estudantes a sentirem que a formação os tem desgastado psicologicamente. Relativamente à qualidade de sono, 77,38% dos estudantes consideram que não têm dormido o suficiente e 22,62% consideram que têm dormido o suficiente, com 63,88% dos estudantes a considerarem que não têm dificuldades para dormir e 32,66% dos estudantes a afirmarem ter dormido 6 horas por dia, 27,96% menos de 5 horas, 19,46% 7 horas por dia, 15,66% 8 horas por dia e 4,25% mais de 8 horas por dia nos últimos tempos.

With regard to stress in the family environment (Tab. 2), it is confirmed that 77.48% of students do not consider the family environment to be a source of continuous stress and difficult to bear, while 22.52% do so; with regard to psychological support, 83.56% of students consider the family to be a source of psychological support and only 16.44% do not. With regard to quality of life, 57.01% of the students consider that their quality of life has decreased recently, and 42.99% do not. Regarding the diagnosis of a mental disorder, 93% of the participants had never been diagnosed with a mental disorder, while 7% had. As for psychological support, 85.10% of the students have never had psychological support from a professional in the field.

With regard to the history of anxiety diagnosis by family members, 72.40% have no family members diagnosed with anxiety, while 27.60% say they do; 91.44% of the students have no chronic illnesses. As for the thoughts associated with students dropping out, 47.63% have already thought about leaving the course they are attending, and with regard to psychological distress, 65.54% of students feel psychologically distressed, with 65.25% of students feeling that their training has psychologically distressed them.

With regard to the quality of sleep, 77.38% of the students consider that they have not had enough sleep and 22.62% consider that they have had enough sleep, 63.88% of the students consider that they have no difficulty sleeping and 32.66% of the students saying that they have slept 6 hours a day, 27.96% less than 5 hours a day, 19.46% 7 hours a day, 15.66% 8 hours a day and 4.25% more than 8 hours a day recently.

With regard to the frequency of physical activity, 27.21% never exercise, 26.28% do so once or twice a month, 18.37% do it every day or almost every day, 15.81% once or twice a week and 12.33% three times a week.

Relativamente à frequência de prática de atividades físicas, 27,21% nunca praticam exercícios físicos, 26,28% praticam uma ou vezes por mês, 18,37% todos os dias ou quase todos os dias, 15,81% uma ou duas vezes por semana e 12,33% três vezes por semana.

Tabela/Table 2: Fatores de ansiedade em estudantes universitários em Benguela/Anxiety factors in university students in Benguela.

Variáveis/Variables	n	%
Consideras o ambiente da tua casa uma fonte de stress contínuo e difícil de suportar/Do you find your home environment a source of continuous stress and difficult to bear? (n=444)		
Não/No	344	77,48%
Sim/Yes	100	22,52%
Tens recebido apoio psicológico da tua família/Have you received psychological support from your family?		
Não/No	73	16,44%
Sim/Yes	371	83,56%
Consideras que a tua qualidade de vida diminuiu nos últimos tempos/Do you consider that your quality of life has decreased recently? (n=442)		
Não/No	190	42,99%
Sim/Yes	252	57,01%
Alguma vez foste diagnosticado com uma perturbação mental/Have you ever been diagnosed with a mental disorder? (n=443)		
Não/No	412	93,00%
Sim/Yes	31	7,00%
Alguma vez tiveste acompanhamento psicológico com um profissional da área/Have you ever had psychological counseling with a professional? (n=443)		
Não/No	377	85,10%
Sim/Yes	66	14,90%
Existem familiares teus diagnosticados com ansiedade/Have any of your family members been diagnosed with anxiety? (n=442)		
Não/No	320	72,40%
Sim/Yes	122	27,60%
Tens alguma doença crónica/Do you have a chronic illness? (n=444)		
Não/No	406	91,44%
Sim/Yes	38	8,56%
Já pensaste em abandonar o curso que frequentas/Have you ever thought about dropping out of your course? (n=443)		
Não/No	232	52,37%
Sim/Yes	211	47,63%
Sentes-te psicologicamente desgastado/Do you feel psychologically worn out? (n=444)		
Não/No	153	34,46%
Sim/Yes	291	65,54%
A tua formação tem te desgastado psicologicamente/Has your training worn you down psychologically? (n=446)		
Não/No	155	34,75%
Sim/Yes	291	65,25%
Consideras que tens dormido o suficiente/Do you consider that you've had enough sleep? (n=442)		
Não/No	342	77,38%
Sim/Yes	100	22,62%
Quantas horas tens dormido por dia/How many hours do you sleep a day? (n=447)		
Menos de 5 horas / Less than 5 hours	125	27,96%
6 horas/hours	146	32,66%
7 horas/hours	87	19,46%
8 horas/hours	70	15,66%
Mais de 8 horas/ More than 8 hours	19	4,25%
Tens dificuldades para adormecer/Do you have trouble falling asleep? (n=443)		
Não/No	283	63,88%
Sim/Yes	160	36,12%
Com que frequência praticas atividades físicas/How often do you do physical activity? (n=430)		

Nunca/Never	117	27,21%
Uma ou duas vezes por mês/Once or twice a month	113	26,28%
Uma ou duas vezes por semana/Once or twice a week	68	15,81%
Três vezes por semana/Three times a week	53	12,33%
Quase todos os dias ou todos os dias/Almost every day or every day	79	18,37%

Os resultados (Tab. 3) mostram que o nível médio de ansiedade dos estudantes em estudo é de 13,70 (dp=10,891), sendo que 218 participantes (49%) apresentaram ansiedade mínima (0 a 10 pontos), 112 (25%) ansiedade leve (11 a 19 pontos), 78 (17%) ansiedade moderada (20 a 30 pontos) e 39 (9%) ansiedade grave (31 a 63 pontos). A análise da consistência interna dos resultados obtidos, a partir da aplicação da BAI, revelou-se muito elevada ($\alpha = 0,905$).

The results (Table 3) show that the average anxiety level of the students is 13.70 (SD=10.891), 218 participants (49%) having minimal anxiety (0 to 10 points), 112 (25%) mild anxiety (11 to 19 points), 78 (17%) moderate anxiety (20 to 30 points) and 39 (9%) severe anxiety (31 to 63 points). The analysis of the internal consistency of the results from BAI proved to be very high ($\alpha = 0.905$).

Tabela/Table 3: Prevalência de ansiedade em Estudantes do Ensino Superior de Benguela/Anxiety Prevalence in Benguela Higher Education Students.

	n	%	M	DP	α
Ansiedade grave/Severely	39	9%			
Ansiedade moderada/Moderately	78	17%			
Ansiedade leve/Mildly	112	25%	13,70	10,891	0,905
Ansiedade mínima/Not at all	218	49%			
Total	447	100%			

Confirmada a não normalidade da distribuição dos dados, através do teste de *Kolmogorov-Smirnov*, optou-se pelos testes de *Mann-Whitney* e de *Kruskal-Wallis* para a avaliação da relação entre os níveis de ansiedade e os fatores em estudo. O género feminino apresentou níveis mais altos de ansiedade (M=16,57) que o masculino (M=10,51), sendo que foram encontradas diferenças estatisticamente significativas (U=32.446,000; p=0,000). Os indivíduos que não possuem um emprego manifestam níveis mais altos de ansiedade (M=13,85) do que os que possuem (M=12,47). No entanto, estas diferenças não se revelaram estatisticamente significativas (U=16.226,500; p=0,091).

Once the non-normality of the data distribution was confirmed using the Kolmogorov-Smirnov test, the Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests were used to assess the relationship between anxiety levels and the factors under study. Females showed higher levels of anxiety (M=16.57) than males (M=10.51), and statistically significant differences were found (U=32,446.000; p=0.000). Individuals who don't have a job have higher levels of anxiety (M=13.85) than those who have a job (M=12.47). However, these differences were not statistically significant (U=16,226.500; p=0.091).

Os cursos em que os estudantes tiveram mais ansiedade foram "Ensino do Português e Línguas Nacionais" (M=23), "Sociologia" (M=21), "Engenharia de Informática e Gestão" (M=19,2), "Economia e Gestão" (M=18,05) "Radiologia e Imagiologia" (M=17,38) e Análises Clínicas e Saúde Pública (16,67) enquanto os estudantes dos cursos de Medicina Geral (M=10,31), Direito (M=10,62) e Arquitectura (M=10,63) tiveram os resultados mais baixos. Constataram-se diferenças estatisticamente significativas entre os estudantes dos diferentes cursos ($X^2_{KW}(7) = 36,094$; p=0,003). Os estudantes que consideram a família como uma fonte de stress contínuo e difícil de suportar tiveram maiores níveis de ansiedade (M=17,77) do que os que não a consideram (M=12,47), sendo que se encontraram diferenças estatisticamente significativas (U= 21629,500; p=0,000).

The courses in which students had the most anxiety were "Teaching Portuguese and National Languages" (M=23), 'Sociology' (M=21), "Computer Engineering and Management" (M=19.2), "Economics and Management" (M=18.05) "Radiology and Imaging" (M=17.38) and Clinical Analysis and Public Health (16.67). While students in General Medicine (M=10.31), Law (M=10.62) and Architecture (M=10.63) had the lowest results. There were statistically significant differences between students on the different courses ($X^2_{KW}(7) = 36.094$; p=0.003). Students who considered family to be a source of continuous stress and difficult to bear had higher levels of anxiety (M=17.77) than those who didn't (M=12.47), and statistically significant differences were found (U= 21629.500; p=0.000).

Tabela/Table 4: Relação entre a Prevalência, os Fatores e as Variáveis Sócio-demográficas/Relationship between Prevalence, Factors and Socio-demographic Variables.

Variável/ Variables	n(%)	Níveis de ansiedade/ Anxietylevels M (DP)	valor-p/ value-p
Género/Gender			
Masculino/Male	216 (48,54)	10,51(8,77)	0,000*
Feminino/Female	229 (51,46)	16,57(11,81)	
Tens um emprego/Do you have a job?			
Não/No	313 (72,96)	13,85(10,69)	0,091*
Sim/Yes	116 (27,04)	12,47(11,14)	
Curso			
Análises Clínicas e Saúde Pública/Clinical Analysis and Public Health	36 (8,65)	16,67(11,10)	0,003**
Arquitetura/Architecture	32 (7,69)	10,63(7,452)	
Engenharia de Construção Civil/Civil Engineering	15 (3,61)	11,33(10,28)	
Economia e Gestão/Economics and Management	21 (5,05)	18,05(13,11)	
Engenharia Electromecânica/Electromechanical Engineering	37 (8,89)	11,14(8,50)	
Enfermagem e Obstetrícia/Nursing and Midwifery	92 (22,12)	14,33(11,54)	
Engenharia Informática de Gestão/Computer Management Engineering	15 (3,61)	19,20(9,97)	
Ciências da Educação Física, Desporto e Motricidade Humana/Physical Education, Sports and Human Motricity Sciences	4 (0,96)	15,50(21,89)	
Ensino do Português e Línguas Nacionais/Teaching Portuguese and National Languages	5 (1,20)	23,00(13,96)	
Psicologia/Psychology	35 (8,41)	14,77(10,74)	
Radiologia e Imagiologia/Radiology and Imaging	16 (3,85)	17,38(10,04)	
Engenharia Refinação de Petróleo/Oil Refining Engineering	16 (3,85)	15,25(10,56)	
Direito/Law	13 (3,13)	10,62(8,62)	
Sociologia/Sociology	2 (0,48)	21,00(14,14)	
Medicina Geral/General Medicine	772(18,51)	10,31(10,06)	
Consideras o ambiente da tua casa uma fonte de stress contínuo e difícil de suportar/Do you find your home environment a source of continuous stress and difficult to bear?			
Não/No	344 (77,48)	12,47(10,05)	0,000*
Sim/Yes	100 (22,52)	17,77(12,43)	
Tens recebido apoio psicológico da tua família/Have you been receiving psychological support from your family?			
Não/No	73 (16,44)	19,00(13,02)	0,000*
Sim/Yes	371 (83,56)	12,64(10,12)	
Consideras que a tua qualidade de vida diminuiu nos últimos tempos/Do you consider that your quality of life has decreased recently?			
Não/No	190 (42,99)	11,18(10,20)	0,000*
Sim/Yes	252 (57,01)	15,55(11,02)	
Alguma vez foste diagnosticado com uma perturbação mental/Have you ever been diagnosed with a mental disorder?			
Não/No	412(93,00)	13,11(10,73)	0,000*
Sim/Yes	31(7,00)	19,94(9,44)	
Alguma vez tiveste acompanhamento psicológico com um profissional da área/Have you ever had psychological counseling with a professional?			
Não/No	377 (85,10)	13,01(10,76)	0,001*
Sim/Yes	6 (14,90)	17,45(11,24)	
Existem familiares teus diagnosticados com ansiedade/Have any of your family members been diagnosed with anxiety?			
Não/No	320 (72,40)	11,76(9,88)	0,000*
Sim/Yes	122 (27,60)	18,53(11,79)	
Tens alguma doença crónica/Do you have a chronic illness?			
Não/No	406 (91,44)	13,10(10,84)	0,000*
Sim/Yes	38 (8,56)	19,05(9,14)	

Sim/Yes			
Já pensaste em abandonar o curso que frequentas/Have you ever thought about dropping out of your course?	232(52,37)	11,35(9,99)	0,000*
Não/No	211(47,63)	16,15(11,20)	
Sim/Yes			
Sentes-te psicologicamente desgastado/Do you feel psychologically worn out?	153 (34,46)	8,92(8,46)	0,000*
Não/No	291(65,54)	16,09(11,01)	
Sim/Yes			
A tua formação tem te desgastado psicologicamente/Has your training worn you down psychologically?	155(34,75)	10,85(9,96)	0,000*
Não/No	291(65,25)	15,20(11,10)	
Sim/Yes			
Consideras que tens dormido o suficiente/Do you consider that you've had enough sleep?	342(77,38)	14,68(10,95)	0,000*
Não/No	100(22,62)	10,22(9,76)	
Sim/Yes			
Quantas horas tens dormido por dia/How many hours do you sleep a day?	125(27,96)	15,23(11,47)	0,241**
Menos de 5 horas/Less than 5 hours	146(32,66)	12,87(9,91)	
6 horas/Hours	87(19,46)	14,10(10,73)	
7 horas/Hours	70(15,66)	12,80(12,43)	
8 horas/Hours	19(4,25)	11,47(8,26)	
Mais de 8 horas/More than 8 hours			
Tens dificuldades para adormecer/Do you have trouble falling asleep?	283(63,88)	11,57(10,90)	0,000*
Não/No	160(36,12)	17,73(11,18)	
Sim/Yes			
Com que frequência praticas atividades físicas/How often do you do physical activity?	117(27,21)	16,37(11,31)	0,002**
Nunca	113(26,28)	13,34(10,13)	
Uma ou duas vezes por mês/Once or twice a month	68(15,81)	9,85(8,19)	
Uma ou duas vezes por semana/Once or twice a week	53(12,33)	14,96(12,22)	
Três vezes por semana/Three times a week	79(18,37)	12,86(10,19)	
Quase todos os dias ou todos os dias/Almost every day or every day			
*Mann-Whitneytest. **Kruskall-Wallis test.			

Os sujeitos que não consideram a família como fonte de apoio psicológico apresentam níveis mais altos de ansiedade ($M=19,00$) do que os sujeitos que a consideram ($M=12,64$), sendo que se constataram diferenças estatisticamente significativas ($U=9615,000$; $p=0,000$). Os indivíduos que consideram que a qualidade de vida deles diminuiu nos últimos tempos apresentam níveis mais altos de ansiedade ($M=15,55$) do que aqueles que não consideram ($M=11,18$), sendo que as diferenças entre os grupos são consideradas estatisticamente significativas ($U=30168$; $p=0,000$).

Os sujeitos com histórico de diagnóstico de uma perturbação mental tiveram níveis mais elevados de ansiedade ($M=19,94$) do que aqueles que não ($M=13,11$), apresentando diferenças estatisticamente significativas ($U=9058,500$; $p=0,000$). Os estudantes que tiveram acompanhamento psicológico com algum profissional na área apresentaram níveis mais elevados de ansiedade ($M=17,45$) do que aqueles

Subjects who do not consider their family to be a source of psychological support show higher levels of anxiety ($M=19.00$) than those who do ($M=12.64$), and statistically significant differences were found ($U=9615.000$; $p=0.000$). Subjects who consider that their quality of life has decreased in recent times have higher levels of anxiety ($M=15.55$) than those who don't ($M=11.18$), and the differences between the groups are considered statistically significant ($U=30168$; $p=0.000$).

Subjects with a history of being diagnosed with a mental disorder had higher levels of anxiety ($M=19.94$) than those who did not ($M=13.11$), with statistically significant differences ($U=9058.500$; $p=0.000$). Students who had received psychological support from a professional in the field had higher levels of anxiety ($M=17.45$) than those who had not, with statistically significant differences ($U=15569.500$; $p=0.000$). Subjects with family members who had a history

que não, tendo sido identificadas diferenças estatisticamente significativas ($U=15569,500$; $p=0,000$). Os sujeitos com familiares com histórico de diagnóstico de ansiedade apresentam maiores níveis de ansiedade ($M=18,53$) do que aqueles que não ($11,76$), sendo que se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($U=26529,500$; $p=0,000$).

Os indivíduos que têm alguma doença crónica apresentaram níveis mais elevados de ansiedade ($M=19,05$) do que aqueles que não ($M=13,64$), apresentando-se diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos ($U=10644,500$; $p=0,000$). Os alunos que já pensaram em abandonar o curso que frequentam apresentaram níveis mais elevados ($M=16,15$) do que aqueles que não ($11,35$), apresentando-se diferenças estatisticamente significativas ($U=31223,000$; $p=0,000$).

Os sujeitos que se sentem psicologicamente desgastados apresentaram maiores níveis de ansiedade ($M=16,09$) do que aqueles que não ($M=8,92$), sendo que foram identificadas diferenças estatisticamente significativas ($U=31522,000$; $p=0,000$).

Os indivíduos que consideram que a formação tem-lhes desgastado psicologicamente revelam níveis mais altos de ansiedade ($M=15,20$), existindo diferenças estatisticamente significativas ($U=28.134,000$; $p=0,000$) em relação aos que não consideram. Os que consideram que não têm dormido o suficiente apresentaram níveis mais elevados de ansiedade ($M=14,68$) do que aqueles que consideram ($M=10,85$), sendo que foram constatadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos ($U=12.570,500$; $p=0,000$). Os que afirmaram ter dormido menos de 5h por dia foram os que mais ansiedade apresentaram ($M=15,23$) seguidos daqueles que dormem comumente 7 horas ($14,10$). Entretanto, não se identificaram diferenças estatisticamente significativas ($X^2_{KW}(4) = 5,489$; $p=0,241$). Os participantes que nunca praticam exercícios físicos foram os que mais ansiedade tiveram ($M=16,37$) e os que praticam uma ou duas vezes por semana os que menos ansiedade demonstraram ($M=9,85$), sendo que se encontraram diferenças estatisticamente significativas ($X^2_{KW}(4) = 16,880$; $p=0,002$). Os sujeitos que têm dificuldades para adormecer apresentaram níveis mais elevados de ansiedade ($M=17,73$) do que aqueles que não ($M=11,57$), sendo que foram constatadas diferenças estatisticamente significativas ($U=13682,000$; $p=0,000$).

Os fatores associados a níveis mais elevados de ansiedade são: ter sido diagnosticado por uma perturbação mental ($M=19,94$), ter uma doença crónica ($M=19,05$), não receber suporte psicológico da família ($M=19$), ter familiares diagnosticados com ansiedade ($M=18,53$), ter o ambiente familiar como fonte de stress contínuo e difícil de suportar ($M=17,77$), ter tido acompanhamento psicológico ($M=17,45$), ter dificuldades para adormecer ($M=17,73$), ser do género feminino ($M=16,57$), nunca praticar exercícios físicos ($M=16,37$), ter pensado em abandonar o curso ($M=16,15\%$), sentir-se psicologicamente desgastado ($M=16,09$) e não dormir o suficiente ($M=14,68$).

Embora estes resultados não constituam propriamente uma novidade para a comunidade académica, a confirmação e a mensuração destes no contexto de Benguela são contribuições

of anxiety diagnoses had higher levels of anxiety ($M=18.53$) than those who did not (11.76), and there were statistically significant differences between the groups ($U=26529.500$; $p=0.000$).

Individuals with a chronic illness had higher levels of anxiety ($M=19.05$) than those without one ($M=13.64$), with statistically significant differences between the two groups ($U=10644.500$; $p=0.000$). Students who had thought about dropping out of their course had higher levels ($M=16.15$) than those who had not (11.35), with statistically significant differences ($U=31223.000$; $p=0.000$).

Subjects who felt psychologically worn out had higher levels of anxiety ($M=16.09$) than those who didn't ($M=8.92$), with statistically significant differences identified ($U=31522.000$; $p=0.000$).

Those who feel that training has worn them down psychologically show higher levels of anxiety ($M=15.20$), with statistically significant differences ($U=28,134.000$; $p=0.000$) compared to those who do not. Those who felt they hadn't had enough sleep had higher levels of anxiety ($M=14.68$) than those who did ($M=10.85$), with statistically significant differences between the two groups ($U=12,570.500$; $p=0.000$). Those who said they slept less than 5 hours a day were the most anxious ($M=15.23$), followed by those who usually slept 7 hours (14.10). However, no statistically significant differences were identified ($X^2_{KW}(4) = 5.489$; $p=0.241$).

Participants who never exercise were the most anxious ($M=16.37$) and those who exercise once or twice a week were the least anxious ($M=9.85$), statistically significant differences were found ($X^2_{KW}(4) = 16.880$; $p=0.002$). Subjects who had trouble falling asleep showed higher levels of anxiety ($M=17.73$) than those who didn't ($M=11.57$), and statistically significant differences were found ($U=13682.000$; $p=0.000$).

The factors associated with higher levels of anxiety are: having been diagnosed with a mental disorder ($M=19.94$), having a chronic illness ($M=19.05$), not receiving psychological support from family ($M=19$), having family members diagnosed with anxiety ($M=18.53$), having the family environment as a source of continuous stress and difficult to bear ($M=17.77$), having had psychological counseling ($M=17.45$), having trouble falling asleep ($M=17.73$), being female ($M=16.57$), never exercising ($M=16.37$), having thought about dropping out ($M=16.15\%$), feeling psychologically worn out ($M=16.09$) and not getting enough sleep ($M=14.68$).

Although these results are not exactly new to the academic community, confirming and measuring them in the Benguela context is a valuable contribution in that it validates the relevance of the variables in this context, which can benefit professionals in the field of psychology and related sciences.

4. DISCUSSION

The study confirms the prevalence of anxiety in university students in Benguela, although at relatively lower levels than the studies consulted in the international context (Asif *et al.*, 2020; Cardozo *et al.*, 2016; Maideen *et al.*, 2015; Martinez-Líbano *et al.*, 2023; Medeiros & Bittencourt, 2021; Rahman *et al.*, 2023; Samreen *et al.*, 2020; Souza *et al.*, 2022). In fact, subjects' mental health can vary depending on the country in

de grande valor para a mesma na medida em que valida a relevância das variáveis supracitadas neste contexto, o que pode beneficiar os profissionais na área da psicologia e das ciências afins.

4. DISCUSSÃO

O estudo confirma a prevalência de ansiedade em estudantes universitários em Benguela, embora em níveis relativamente inferiores aos estudos consultados no contexto internacional (Asif *et al.*, 2020; Cardozo *et al.*, 2016; Maideen *et al.*, 2015; Martinez-Líbano *et al.*, 2023; Medeiros & Bittencourt, 2021; Rahman *et al.*, 2023; Samreen *et al.*, 2020; Souza *et al.*, 2022). De facto, a saúde mental dos sujeitos pode variar em função do país em que se vive, o que indica que os fatores sociais, culturais e económicos são variáveis importantes para a compreensão da saúde mental (Ike *et al.*, 2025).

Os resultados da presente pesquisa indicam que os sujeitos que não têm recebido suporte psicológico das respetivas famílias (M=19,00), que consideram o ambiente familiar stressante e difícil de suportar (M=17,77) ou que têm familiares diagnosticados com ansiedade (M=18,53) estão associados a níveis mais elevados de ansiedade e, considerando que há um grande envolvimento das famílias nos processos de decisão dos indivíduos em Angola, o contexto familiar dos estudantes universitários de Benguela pode influenciar significativamente tanto no surgimento de perturbações psicológicas quanto na manutenção da saúde mental dos mesmos. De facto, a literatura sugere que os indivíduos com famílias funcionalmente estáveis estão menos associados às perturbações de ansiedade (Wang *et al.*, 2016).

Foram de igual modo identificadas diferenças estatisticamente significativas na variável "curso", o que sugere que alguns cursos (Engenharia Informática de Gestão, Economia e Gestão, Análises Clínicas e Saúde Pública) estão associados a níveis mais elevados de ansiedade (médias iguais a 19,20, 18,05 e 16,67, respetivamente). Entretanto, as diferenças podem ser mediadas pela variável género, uma vez que os cursos maioritariamente frequentados por sujeitos do género feminino são os que apresentaram maiores níveis de ansiedade.

Os estudantes que consideram que houve uma diminuição da qualidade das suas vidas nos últimos tempos estão associados a níveis mais altos de ansiedade (M=15,55). Existem evidências que sugerem uma desvalorização acentuada e progressiva da moeda de Angola (Kwanza) (Eliote, 2025) e este facto afeta o poder de compra dos cidadãos e, por conseguinte, aumenta as preocupações associadas à satisfação das respetivas necessidades. Assim, os estudantes universitários, enquanto cidadãos, podem ser afetados por esta desvalorização, o que aumenta o preço dos materiais didáticos (livros), do táxi, da alimentação e do acesso à internet e à computadores e pode ampliar os desafios destes comparativamente com os estudantes de outros contextos mais estáveis do ponto de vista financeiro. Entretanto, a constatação de que nas regiões financeiramente mais instáveis existem níveis mais elevados de ansiedade, como verificado em alguns estudos realizados no Brasil (Martinez-Líbano *et al.*, 2023; Medeiros & Bittencourt, 2021; Souza *et al.*, 2022), sugere que esta variável não pode ser avaliada isoladamente e determinista.

which they live, and that

indicates that social, cultural and economic factors are important variables in understanding mental health (Ike *et al.*, 2025).

The results of this research indicate that subjects who have not received psychological support from their families (M=19.00), who find the family environment stressful and difficult to bear (M=17.77) or who have family members diagnosed with anxiety (M=18.53) are associated with higher levels of anxiety and, considering that there is a great deal of family involvement in the decision-making processes of individuals in Angola, the family context of university students in Benguela can significantly influence both the emergence of psychological disorders and the maintenance of their mental health. In fact, the literature suggests that individuals with functional and stable families are less associated with anxiety disorders (Wang *et al.*, 2016).

Statistically significant differences were also identified in the "course" variable, which suggests that some courses (Computer Management Engineering, Economics and Management, Clinical Analysis and Public Health) are associated with higher levels of anxiety (means equal to 19.20, 18.05 and 16.67, respectively). However, the differences may be mediated by the gender variable, since the courses mostly attended by females are the ones with the highest levels of anxiety.

Students who feel that the quality of their lives has decreased in recent times are associated with higher levels of anxiety (M=15.55). There is evidence to suggest a sharp and progressive devaluation of Angola's currency (Kwanza) (Eliote, 2025) and this affects citizens' purchasing power and therefore increases the concerns associated with meeting their needs. University students, as citizens, may therefore be affected by this devaluation, which increases the price of teaching materials (books), cabs, food and access to the internet and computers, and may increase their challenges compared to students from other, more financially stable backgrounds.

However, the finding that there are higher levels of anxiety in more financially unstable regions, as seen in some studies carried out in Brazil (Martinez-Líbano *et al.*, 2023; Medeiros & Bittencourt, 2021; Souza *et al.*, 2022), suggests that this variable cannot be assessed in isolation and deterministically.

Students who already had psychological counseling showed higher levels of anxiety (M=17.45), contrary to what was expected by the authors of this article. This could be explained by the fact that the patients had given up on treatment for mental disorders or by the inefficiency of the treatment they have received. The lack of a legally recognized and functional Order of Psychologists in Angola may be a variable that deserves particular attention, given the absence of a regulatory body for the profession of psychologists held responsible, among other things, for overseeing the practice of professionals.

According to the results found in this research, 65% of the students feel psychologically worn out and expressed more anxiety levels (M=16.09) than those who do not (M=8.92), but only 14.9% of the students have ever benefited from psychological counseling with a professional, which

Os estudantes que já tiveram acompanhamento psicológico apresentaram níveis mais altos de ansiedade ($M=17,45$), ao contrário do que era expectável pelos autores do presente artigo. Este facto pode ser explicado pela desistência do tratamento de perturbações mentais por parte dos utentes ou pela ineficiência do tratamento a que foram submetidos. A inexistência de uma Ordem dos Psicólogos em Angola legalmente reconhecida e funcional pode ser uma variável que merece particular atenção, dada a ausência de um órgão regulador da profissão dos psicólogos responsável, entre outros domínios, pela fiscalização da prática dos profissionais.

De acordo com os resultados encontrados na presente investigação, 65% dos estudantes sentem-se psicologicamente desgastados e manifestaram mais ansiedade ($M=16,09$) do que aqueles que não se sentem psicologicamente desgastados ($M=8,92$), mas apenas 14,9% dos estudantes já se beneficiaram de acompanhamento psicológico com um profissional, o que revela uma baixa adesão à psicoterapia. Este facto pode estar associado ao estigma ligado às perturbações mentais, a baixos níveis de literacia em saúde mental e à inexistência de programas de intervenção psicológica específicos para os estudantes universitários em Benguela. De facto, apesar dos esforços empreendidos pelos psicólogos em Angola, ainda se verifica algum estigma ligado às perturbações mentais (Veloso & Lopes, 2024).

Apesar dos estudantes que menos horas dormiam serem os que mais ansiedade apresentaram e aqueles que mais horas dormiam serem os que menos ansiedade demonstraram, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas, ao contrário da variável “dormir o suficiente”. Desse modo, os resultados sugerem que pese embora se leve em conta a quantidade de horas de sono, é essencial que se saiba se estas são consideradas como suficientes para os sujeitos, sendo a avaliação qualitativa do sono mais importante do que a quantitativa enquanto variável (não) associada à ansiedade.

5. CONCLUSÕES

O presente estudo conclui que a prevalência de ansiedade em estudantes universitários em Benguela é de 26%, sendo que os estudantes que são do género feminino ($M=16,57$), têm um ambiente familiar stressante e difícil de suportar ($M=17,77$), não têm apoio psicológico familiar ($M=19$), têm o diagnóstico de uma perturbação mental ($M=19,94$), têm membros da família diagnosticado com ansiedade ($M=18,53$), têm uma doença crónica ($M=19,05$), sentem-se psicologicamente desgastado ($M=16,09$), dormem insuficientemente ($M=14,68$) ou nunca praticam exercícios físicos ($M=16,37$) estão mais associados à ansiedade.

A prevalência de ansiedade (26%) bem como a percentagem de estudantes que se sentem psicologicamente desgastados (65%) revelam a necessidade de projetos de intervenção psicológica com vista a melhorar os níveis de saúde mental dos estudantes universitários.

Entretanto, o presente estudo apresenta algumas limitações, com particular ênfase para a técnica de seleção da amostra (não aleatória por conveniência) e a significância da amostra (447 participantes). Além disso, são necessários estudos que abordem de forma aprofundada variáveis específicas, como

revela a low level of adherence to psychotherapy. This may be associated with the stigma attached to mental disorders, low levels of mental health literacy and the lack of specific psychological intervention programs for university students in Benguela. In fact, despite the efforts made by psychologists in Angola, there is still some stigma attached to mental disorders (Veloso & Lopes, 2024).

Although the students who slept the least hours had the most anxiety and those who slept the most hours had the least anxiety, there were no statistically significant differences, unlike the variable “getting enough sleep”. In this way, the results suggest that although the number of hours of sleep is taken into account, it is essential to know whether these are considered sufficient for the subjects and the qualitative assessment of sleep being more important than the quantitative one as a variable (not) associated with anxiety.

5. CONCLUSIONS

This study concludes that the prevalence of anxiety in university students in Benguela is 26%. Students who are female ($M=16.57$), have a stressful and difficult family environment ($M=17.77$), have no family psychological support ($M=19$), have a diagnosis of a mental disorder ($M=19.94$), have family members diagnosed with anxiety ($M=18.53$), have a chronic illness ($M=19.05$), feel psychologically worn out ($M=16.09$), sleep insufficiently ($M=14.68$) or never exercise ($M=16.37$) are more associated with anxiety.

The prevalence of anxiety (26%) as well as the percentage of students who feel psychologically worn out (65%) reveal the need for psychological intervention projects to improve the mental health levels of university students.

However, this study has some limitations, with particular emphasis on the sample selection technique (non-random by convenience) and the significance of the sample (447 participants). In addition, there is a need for studies that take an in-depth look at specific variables, such as the relationship between family (dys)functionality and anxiety, academic performance (measured by grades) and mental health, the effectiveness of treatment by psychology professionals, academic experiences and the withdrawal from psychology consultations by university students in Benguela.

a relação entre a (dis)funcionalidade familiar e a ansiedade, o desempenho académico (medido através das notas) e a saúde mental, a eficácia do tratamento dos profissionais em psicologia, as vivências académicas e a desistência das consultas de psicologia por parte dos estudantes universitários em Benguela.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse.

AGRADECIMENTOS

Os autores manifestam a sua gratidão ao ISP Jean Piaget de Benguela pela aprovação, acompanhamento e financiamento para a realização da pesquisa.

CONTRIBUIÇÕES AUTORAIS

Conceptualização, Teotónio Gumbe e Paulo Alves; metodologia, Teotónio Gumbe e Paulo Alves; software, Teotónio Gumbe, Telma Serafim, Bernardo Luís, Cristóvão Ndumbo, Belmira Chiaia; análise formal, Teotónio Gumbe e Paulo Alves; investigação, Teotónio Gumbe, Telma Serafim, Bernardo Luís, Cristóvão Ndumbo, Belmira Chiaia; curadoria de dados, Teotónio Gumbe e Paulo Alves; redação - preparação do draft original, Teotónio Gumbe e Paulo Alves; redação - revisão e edição, Teotónio Gumbe e Paulo Alves; supervisão, Paulo Alves; coordenação do projeto, Teotónio Gumbe e Paulo Alves. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- AAES – Anuário Estatístico do Ensino Superior, Ministério do Ensino Superior, Ciência Tecnologia e Inovação, 7ª Edição, Luanda, 2023.
- AAES – Anuário Estatístico do Ensino Superior, Ministério do Ensino Superior, Ciência Tecnologia e Inovação, 8ª Edição, Luanda, 2025.
- Alves JV, Paula W, Netto PR, Godman B, Nascimento RC, Coura-Vidal W. Prevalence and factors associated with anxiety among university students of health sciences in Brazil: findings and implications. *J Bras Psiquiatr.* **70**:99-107, 2021.
- APA. APA Dictionary of Psychology. American Psychological Association, Washington, 2015.
- APA. Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (5ª ed.). ARTMED, Porto Alegre, 2014.
- Asif S, Mudassar A, Shahzad TZ, Raouf M, Pervaiz T. Frequency of depression, anxiety and stress among university students. *Pak J Med Sci* **36**:971-976, 2020.
- Bahu HA. A ideia de família extensa em contexto angolano: um legado histórico em desagregação. In: Leituras cruzadas sobre Angola: saberes, culturas e políticas, Pantoja, S (Org). Volume 2, Paco, São Paulo, 63-77:2018.
- Bernardelli L, Pereira C, Brene P, Castorini L. A ansiedade no meio universitário e sua relação com as habilidades sociais. *Avaliação* **27**:49-67, 2022.
- Cardozo MQ, Gomes KM, Fan LG, Soratto MT. Fatores associados à ocorrência de ansiedade dos académicos de biomedicina. *Revista Saúde e Pesquisa* **9**:251-262, 2016.
- Costa CO, Branco JC, Vieira IS, Souza LD, Silva RA. Prevalência de ansiedade e fatores associados em adultos. *J Bras Psiquiatr.* **68**:92-100, 2019.
- Eliote IT. Políticas monetárias: uma observação científica das estratégias, impactos e desafios em Angola. *Revista Tópicos* **3**:1-13, 2025. <https://doi.org/10.5281/zenodo.17451261>
- Filho JM, Aleaga TR. A historicidade do ensino superior desde a génese até à actualidade: suas transformações e impacto no sistema educativo angolano. *Revista Educación, Política y Sociedad*, **6**:177-202, 2021. <https://doi.org/10.15366/rep2021.6.1.007>
- Gkitakou A, Have MT, Batelaan NM, Luik AI, Penninx BW. Anxiety and mood disorders on the rise: exploring clinical profiles and risk factors. *The British Journal of Psychiatry*, 1–8. 2025. <https://doi.org/10.1192/bjp.2025.10454>
- Gungula E, Faustino A, Velásquez J, Batista R. Especialização em gestão do ensino superior: desafios e oportunidades para o fortalecimento da investigação científica em Angola. *Actualidades Investigativas en Educación* **24**:229-255, 2024.
- Ike OO, Kwarteng MA, Ogbonna G, Santos IB, Ogiemudia O M, Anyasodor AE, Antwi-Adjei EK, Amaechi OU, Ebele EG, Ezinne NE, Mashige KP, Ndep A, Daniel-Nwosu E, Ekpenyong BN, Magakwe TS, Agho KE, Dahunsi AN, Adegboye OA, Ogbuehi KC, Osuagwu UL. Cross-national variations in mental health: a cross-sectional study on depression, anxiety, and stress among university staff and students in Sub-Saharan African. *PLoS One*, **20**:e0322163, 2025. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0322163>
- Instituto Nacional de Estatística. Resultados Definitivos do Recenseamento Geral da População e Habitação 2024, Luanda.
- Jaris NH, Razali S, Sham F, Anne SJ, Asih SR, Ali IM. From home to campus: how family dynamics influence anxiety in Malaysian university students. *Environment-Behaviour Proceedings Journal*, **10**:195-202, 2025. <https://doi.org/10.21834/e-bpj.v10i32.6715>
- Hossain M, Alam A, Masum MH. Prevalence of anxiety, depression, and stress among students of Jahangirnagar University in Bangladesh. *Health*

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to express their gratitude to ISP Jean Piaget de Benguela for approving, monitoring and funding the research.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization, Teotónio Gumbe and Paulo Alves; methodology, Teotónio Gumbe and Paulo Alves; software, Teotónio Gumbe, Telma Serafim, Bernardo Luís, Cristóvão Ndumbo, Belmira Chiaia; formal analysis, Teotónio Gumbe and Paulo Alves; research, Teotónio Gumbe, Telma Serafim, Bernardo Luís, Cristóvão Ndumbo, Belmira Chiaia; data curation, Teotónio Gumbe and Paulo Alves; writing - preparation of the original draft, Teotónio Gumbe and Paulo Alves; writing - revision and editing, Teotónio Gumbe and Paulo Alves; supervision, Paulo Alves; project coordination, Teotónio Gumbe and Paulo Alves. All the authors have read and agreed with the published version of the manuscript.

- Science Reports* **5**:1-10, 2022. <https://doi.org/10.1002/hsr2.559>.
- Maideen SF, Sidik S, Rampal L, & Mukhtar F. Prevalence, associated factors and predictors of anxiety: a community survey in Selangor, Malaysia. *BMC Psychiatry* **15**:262, 2015.
- Marchini DM, Cardoso R, Oswaldo Y, Pires SR. Análise de estresse e qualidade de vida em alunos universitários. *Revista de Administração da UNIMEP* **17**, 2019.
- Martínez-Líbano J, Torres-Vallejos J, Oyanedel JC, González-Campusano N, Calderón-Herrera G, Yeomans-Cabrera M. Prevalence and variables associated with depression, anxiety, and stress among Chilean higher education students, post-pandemic. *Psychiatry* **14**:1-9, 2023.
- Medeiros PP, Bittencourt FO. Fatores associados à ansiedade em estudantes de uma faculdade particular. *Research, Society and Development* **10**:43-55, 2021.
- Miguel AC, Ribeiro E. Impacto da pandemia COVID-19 nas experiências dos estudantes do ensino superior: um estudo qualitativo em contexto angolano. *Revista PSICOLOGIA* **39**:15-28, 2025.
- Ngoma JD. O contributo do grupo Ovimbundu na educação dos membros no contexto sociocultural. *Dados de África (s)* **4**:55-69, 2023.
- Oliveira GF, Pereira T, Carreiro DL, Coutinho WL, Coutinho LT. Existe relação entre transtorno de ansiedade e trabalho entre estudantes de psicologia?. *Revista Laborativa* **6**:27-42, 2017.
- Quintão S, Delgado AR, Prieto G. Validity study of the Beck Anxiety Inventory (portuguese version) by the Rasch Rating Scale Model. *Psicologia: Reflexão e Crítica* **26**:305-310, 2013.
- Pereira M, Macuch R, Bortolozzi F, Antunes MD. A relação entre as condições de trabalho e saúde dos estudantes trabalhadores. *Saúde e Pesquisa* **9**, 2016.
- Rahman T, Hossain M, Bristy NN, Hoque Z, Hossain M. Influence of cyber-victimization and other factors on depression and anxiety among university students in Bangladesh. *Journal of Health, Population and Nutrition* **42**:119, 2023.
- Samreen S, Siddiqui NA, Mothana RA. Prevalence of anxiety and associated factors among pharmacy students in Saudi Arabia: a cross-sectional study. *BioMed Research International* 1-6, 2020.
- Simões, TA, Alberto, IM. "But ... we are Africans!": family life cycle structuring and functioning in southern Angola, *Journal of Psychology in Africa*, **25**:504-511, 2015. <http://dx.doi.org/10.1080/14330237.2015.1124602>
- Souza JP, Demenech LM, Dumith SC, Neiva-Silva L. Sintomas de ansiedade generalizada entre estudantes de graduação: prevalência, fatores associados e possíveis consequências. *J Bras Psiquiatr.* **71**:193-203, 2022.
- Veloso HC, Lopes MF. Atitudes das Famílias Face aos Membros Portadores de Psicose: Estudo de caso do Hospital Psiquiátrico do Lubango e do Centro de Reabilitação Psicossocial do Lubango – Angola, *Academicus Magazine* **2**:30-43, 2024.
- Wahed WY, Hassan SK. Prevalence and associated factors of stress, anxiety and depression among medical Fayoum University students. *Alexandria Journal of Medicine* **53**:77-84, 2017.
- Wang J, Chen Y, Tan C, Zhao X. Family functioning, social support and quality of life for patients with anxiety disorder. *International Journal of Social Psychiatry* **62**:5-11, 2016.
- WHO. World Mental Health Report: Transforming Mental Health for All. World Health Organization, 2022.

Padrões epigenéticos das DNMTs e alterações estruturais da retina na Degenerescência Macular da Idade

Epigenetic Signatures of DNMTs and Retinal Structural Changes in Age-Related Macular Degeneration

Ana Afonso¹ , Diana Nobre¹ , Leonor Lino¹ , Edna Ribeiro¹ , Bruno Pereira^{1,3} , Catarina Ginete¹ , Carina Silva¹ , Miguel Brito¹ , Pedro Camacho^{1,2,3} 

¹H&TRC- Health & Technology Research Center, ESSL- Escola Superior de Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa, Lisboa, Portugal

²Ophthalmology Institute Dr. Gama Pinto, Lisboa, Portugal

³iNOVA4Health, NOVA Medical School, NMS, Faculdade de Ciências Médicas, FCM, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

*Autor correspondente/Corresponding author: pedro.camacho@essl.ipl.pt

Recebido/Received: 24-09-2025; Revisto/Revised: 01-02-2026; Aceite/Accepted: 31-03-2026

Resumo

Introdução: A DMI é uma das principais causas de perda visual irreversível em idosos, com opções terapêuticas limitadas nas fases não avançadas, destacando a necessidade de identificar biomarcadores eficazes. Alterações epigenéticas, como a expressão das DNMT's, têm sido implicadas na DMI, mas a sua relação com mudanças estruturais na Coróide e no GCL+IPL permanece pouco explorada. **Objetivo:** Descrever e correlacionar a expressão genética de modeladores epigenéticos (DNMT1, DNMT3A e DNMT3B) com a espessura da Coróide e GCL+IPL, obtida através do SD-OCT em diferentes estádios de DMI. **Material e Métodos:** Estudo transversal com 34 doentes distribuídos por DMI precoce (n=4), intermédia (n=13), atrófica (n=5) e neovascular (n=12). A expressão génica das DNMTs foi quantificada em sangue periférico. Foram avaliadas medidas funcionais (BCVA) e estruturais (RNFL, GCL, GCL+IPL, CRT, coróide) através de SD-OCT. **Resultados:** Na DMI atrófica, observou-se *downregulation* significativa de todas DNMTs em comparação com fases precoce, intermédia e neovascular ($p < 0,05$). Em contraste, verificou-se tendência para *upregulation* na DMI neovascular. Na DMI intermédia, níveis mais elevados de DNMT1 correlacionaram-se positivamente com espessura da GCL e do GCL+IPL central ($p < 0,05$), enquanto DNMT3A e DNMT3B apresentaram correlações negativas com RNFL central e BCVA ($p < 0,05$). Na DMI neovascular, a expressão de DNMT1 correlacionou-se negativamente com GCL e GCL+IPL. **Conclusão:** Fenótipos avançados da DMI apresentam padrões epigenéticos distintos, refletindo mecanismos patológicos diferenciados. A integração de biomarcadores epigenéticos e de imagem poderá contribuir para uma melhor estratificação da doença.

Palavras-chave: Degenerescência Macular da Idade; Complexo de Células Ganglionares; Coróide; Epigenética; DNA Metiltransferases.

Abstract

Introduction: Age-related macular degeneration (AMD) is one of the leading causes of irreversible visual loss in the elderly. Identifying effective biomarkers is essential due to the limited therapeutic options in the early stages. Epigenetic alterations, such as DNA methyltransferase (DNMT) expression, have been implicated in AMD pathogenesis; however, their association with structural changes in the choroid and GCL+IPL remains poorly understood. **Objective:** To describe and correlate the genetic expression of epigenetic regulators (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B) with choroidal and GCL+IPL thickness, assessed by SD-OCT, across different stages of AMD. **Methods:** Cross-sectional study including 34 patients with early AMD (n=4), intermediate (n=13), atrophic (n=5), and neovascular (n=12). Gene expression of DNMTs was quantified in peripheral blood. Functional (BCVA) and structural (RNFL, GCL, GCL+IPL, CRT, choroid) parameters were assessed using SD-OCT. **Results:** Atrophic AMD showed significant downregulation of DNMT1, DNMT3A, and DNMT3B compared with early, intermediate, and neovascular stages ($p < 0.05$). In contrast, neovascular AMD exhibited a trend towards DNMT upregulation. In intermediate AMD, higher DNMT1 levels correlated positively with GCL and central GCL+IPL thickness ($p < 0.05$), whereas DNMT3A and DNMT3B correlated negatively with central RNFL and BCVA ($p < 0.05$). In neovascular AMD, DNMT1 expression correlated negatively with GCL and GCL+IPL thickness. **Conclusion:** Advanced AMD phenotypes exhibit distinct epigenetic patterns, reflecting differentiated pathogenic mechanisms. Integrating epigenetic and imaging biomarkers may improve disease stratification. Larger longitudinal studies are warranted to validate these findings and to explore the potential of DNMTs as clinical biomarkers.

Keywords: Age-related macular degeneration; Ganglion cell complex; Choroid; Epigenetics; DNA methyltransferases.

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional tem sido acompanhado por um aumento da prevalência de doenças neurodegenerativas, como a degenerescência macular da idade (DMI), a qual se estima poder afetar até 288 milhões de pessoas em todo o mundo em 2040 (Wong et al., 2014). Enquanto principal causa de perda visual irreversível em indivíduos com mais de 60 anos, a DMI tem um impacto significativo na qualidade de vida com um custo anual estimado de cerca de 30 milhões de euros para os sistemas de saúde (Cachulo et al., 2016; Zhang et al., 2024). Com uma etiologia multifatorial, a DMI resulta da interação entre fatores genéticos e ambientais, sendo influenciada por alterações nas vias inflamatórias, metabólicas e vasculares. Do ponto de vista clínico, pode ser classificada em DMI inicial/intermédia (DMI não avançada) ou nas suas formas atrófica/neovascular (DMI avançada) (Fleckenstein et al., 2024).

Apesar dos avanços significativos das terapêuticas intravítreas anti-VEGF na DMI neovascular, persiste um hiato terapêutico nas fases iniciais e intermédias da doença, que representam cerca de 90% dos casos, bem como nos estádios avançados atróficos, nos quais os agentes recentemente aprovados ainda não são utilizados de forma consensual na prática clínica (Corradetti et al., 2021; Sitnilska et al., 2021). Desta forma, a clarificação dos mecanismos fisiopatológicos ao longo dos diferentes estádios da DMI, bem como a otimização do uso de biomarcadores sistêmicos e imagiológicos, são fundamentais para uma melhor gestão da doença (Camacho et al., 2025; More et al., 2019).

Os drusen representam um sinal fundamental no diagnóstico e na avaliação do risco de progressão, enquanto biomarcadores imagiológicos. No entanto, doentes com fenótipos semelhantes podem evoluir para diferentes formas avançadas (atrófica ou neovascular), o que tem justificado a procura de novos biomarcadores estruturais pelo recurso de técnicas de imagem de alta resolução. Neste contexto, a disfunção vascular, refletida por variações na espessura coroideia, tem sido associada a hipóxia e isquemia do epitélio pigmentar da retina (EPR), secundárias à redução da perfusão coroideia (Camacho et al., 2018; Costa et al., 2025; Govetto et al., 2017). Paralelamente, têm sido descritas modificações neurodegenerativas na DMI, como a redução da espessura do complexo de células ganglionares (GCC), distintas dos padrões do envelhecimento fisiológico que podem refletir uma disfunção da função retiniana e da transmissão neuronal (Camacho et al., 2017; Farinha et al., 2021).

Ao nível sistémico, estudos genéticos identificaram polimorfismos associados a vias inflamatórias, imunitárias, metabólicas e energéticas. No entanto, a genética explica apenas cerca de 40–60% da variabilidade clínica da DMI, salientando o contributo de fatores ambientais e do estilo de vida (Fritsche et al., 2014). Neste contexto, a epigenética tem vindo a ganhar relevância, ao estudar modificações na expressão génica induzidas pelo ambiente, sem alteração da sequência do DNA (Baird and Wei, 2013). Alterações da metilação do DNA têm sido descritas em genes envolvidos na homeostasia do EPR sob stress oxidativo, na integridade da barreira hematorretiniana associada à sinalização angiogénica (Nashine and Kenney, 2020; Wu et al., 2021), e na desregulação imunitária com repercussão na resposta inflamatória (Wei et al., 2012). Mais recentemente, o estudo da

1. INTRODUCTION

Population ageing has been accompanied by a marked increase in the prevalence of neurodegenerative diseases, such as age-related macular degeneration (AMD), which is projected to affect up to 288 million people by 2040 (Wong et al., 2014). As the leading cause of irreversible vision loss in individuals over 60 years of age, AMD has a profound impact on quality of life and represents an estimated annual cost of 30 million euros for healthcare systems (Cachulo et al., 2016; Zhang et al., 2024). With multifactorial etiology, AMD arises from the interaction between genetic and environmental factors, and is associated with inflammatory, metabolic, and vascular dysfunctions. Clinically, it can be classified into early and intermediate stages (non-advanced AMD) and atrophic and neovascular forms (advanced AMD) (Fleckenstein et al., 2024).

Despite significant advances with anti-VEGF intravitreal therapies for neovascular AMD, substantial therapeutic gaps persist in early disease, which accounts for nearly 90% of cases, and in atrophic stages, where newly approved agents are not yet used consistently in clinical practice (Corradetti et al., 2021; Sitnilska et al., 2021). Clarifying the pathophysiological mechanisms across different AMD stages, and optimizing the use of systemic and imaging biomarkers are critical steps for improved disease management (Camacho et al., 2025; More et al., 2019).

Drusen is a hallmark for diagnosis and progression risk assessment among imaging biomarkers. However, patients with similar phenotypes may progress to different advanced forms (atrophic or neovascular), driving the search for novel structural biomarkers enabled by high-resolution imaging. In this regard, vascular impairment reflected by choroidal thickness variation has been associated with hypoxia and ischemia of the retinal pigment epithelium (RPE), secondary to reduced choroidal perfusion (Camacho et al., 2018; Costa et al., 2025; Govetto et al., 2017). Neurodegenerative features have also been linked to AMD, with changes in ganglion cell complex (GCC) thickness, distinct from physiological ageing patterns, reflecting impaired retinal function and neuronal transmission (Camacho et al., 2017; Farinha et al., 2021).

At a systemic level, genetic studies have identified polymorphisms affecting inflammatory, immune, metabolic, and energetic pathways. Nevertheless, genetics accounts for only 40–60% of AMD's clinical variability, underscoring the contribution of environmental and lifestyle factors (Fritsche et al., 2014). In this context, epigenetics has gained relevance, as it investigates environmentally induced modifications in gene expression without altering the DNA sequence (Baird and Wei, 2013). Aberrant DNA methylation has been described in genes involved in RPE homeostasis under oxidative stress, in the blood–retinal barrier associated with angiogenic signaling (Nashine and Kenney, 2020; Wu et al., 2021), and in immune dysregulation promoting inflammatory responses (Wei et al., 2012). Moreover, differential expression of DNA methyltransferases (DNMTs) has been reported across AMD stages, suggesting that distinct pathways may predominate in different disease phases (Camacho et al., 2025).

Despite these advances, the role of epigenetic

expressão diferencial das DNA metiltransferases (DNMTs) ao longo dos diferentes estádios da DMI, reforçou o contributo de vias moleculares distintas nas diferentes fases da doença (Camacho et al., 2025).

Apesar destes avanços, o papel das alterações epigenéticas na progressão da DMI e a sua correlação com marcadores vasculares e neurodegenerativos não têm sido explorados. Assim, este estudo teve como objetivo correlacionar a expressão de reguladores epigenéticos (DNMT1, DNMT3A e DNMT3B) com a espessura da coróide e com a espessura combinada da camada de células ganglionares e da camada plexiforme interna (GCL+IPL), avaliadas por tomografia de coerência ótica de domínio espectral (SD-OCT), em doentes com diferentes estádios de DMI. A integração destas abordagens de avaliação de parâmetros vasculares e neurodegenerativos poderá contribuir para a identificação e consolidação de biomarcadores de diagnóstico precoce, bem como para o aperfeiçoamento da monitorização clínica da DMI.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo observacional, de natureza transversal, foi conduzido com base numa coorte de doentes proveniente da base de dados do projeto "Interplay Between Inflammatory Genes and Methylation in Age-Related Macular Degeneration Progression" (IPL/IDI&CA2024/INSYDE AMD ESTeSL). O estudo foi desenvolvido na Escola Superior de Saúde de Lisboa (ESSL), em colaboração com o Lisbon Retina Institute (IRL) e o Instituto de Oftalmologia Dr. Gama Pinto (IOGP). O principal objetivo consistiu em descrever e correlacionar a expressão genética de moduladores epigenéticos (*DNMT1*, *DNMT3A* e *DNMT3B*) com a espessura de coróide e da camada combinada de células ganglionares e camada plexiforme interna (GCL+IPL), quantificadas por SD-OCT, em participantes com diferentes estádios de DMI. A base de dados foi construída a partir de dados clínicos e protocolos definidos no estudo original, o qual foi aprovado pelas Comissões de Ética da ESTeSL (CE-ESTeSL-Nº 59-2024), do IOGP e do IRL, em conformidade com os princípios da Declaração de Helsínquia. Todos os participantes receberam informação detalhada sobre o estudo e assinaram consentimento informado escrito.

2.1 SELEÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DOS PARTICIPANTES

Foi incluída uma amostra de conveniência, não probabilística, composta por 34 doentes provenientes do IRL e do IOGP, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão previamente definidos. Os participantes elegíveis apresentaram uma idade ≥ 55 anos, diagnóstico médico confirmado de DMI e forneceram amostras de sangue periférico.

A classificação clínica foi realizada de acordo com a classificação *Age-Related Eye Disease Study* (AREDS): **DMI inicial** (categoria AREDS 2), caracterizada por drusen intermédios (63–124 μm) ou alterações ligeiras do epitélio pigmentar da retina (EPR); **DMI intermédia** (categoria AREDS 3), definida pela presença de numerosos drusen intermédios, pelo menos um drusen grande ($\geq 125 \mu\text{m}$) e atrofia não central do EPR; **DMI atrófica** (categoria AREDS 4), com atrofia geográfica localizada a menos de 500 μm do centro foveal; e **DMI neovascular** (categoria AREDS 4), caracterizada por neovascularização sub-

alterations in AMD progression and their correlation with vascular and neurodegenerative markers remains underexplored. Therefore, we aimed to correlate the expression of epigenetic regulators (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B) with choroidal and combined ganglion cell layer and inner plexiform layer (GCL+IPL) thickness, measured by spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) in patients with different AMD stages. Integrating these vascular and neurodegenerative approaches may contribute to the identification of novel early diagnostic biomarkers and enhance clinical monitoring of AMD.

2. MATERIALS AND METHODS

This observational, cross-sectional study was conducted using a cohort of patients from the database of the project "Interplay Between Inflammatory Genes and Methylation in Age-Related Macular Degeneration Progression" (IPL/IDI&CA2024/INSYDE AMD ESTeSL). The study was carried out at the Lisbon School of Health Technology (ESTeSL) in collaboration with the Lisbon Retina Institute (IRL) and the Dr. Gama Pinto Ophthalmology Institute (IOGP). Its main objective was to describe and correlate the genetic expression of epigenetic modulators (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B) with choroidal and GCL+IPL thickness, assessed by SD-OCT, in participants at different AMD stages. The database was developed from clinical data and protocols defined in the original study, which was approved by the Ethics Committees of ESTeSL (CE-ESTeSL-Nº.59-2024), IOGP and IRL, in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. All participants received detailed information about the study and signed written informed consent.

2.1 PARTICIPANT SELECTION AND CLASSIFICATION

A convenience, non-probabilistic sample of 34 patients from IRL and IOGP was included, following the inclusion and exclusion criteria described previously. Eligible participants were aged ≥ 55 years, had a confirmed medical diagnosis of AMD, and provided peripheral blood samples. Clinical staging followed the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) severity scale commonly used in: **early AMD** (AREDS category 2) with intermediate drusen (63–124 μm) or mild RPE abnormalities; **intermediate AMD** (AREDS category 3) with numerous intermediate drusen, at least one large drusen ($\geq 125 \mu\text{m}$) and non-central RPE atrophy; **atrophic AMD** (AREDS category 4) with geographic atrophy within 500 μm of the foveal centre; and **neovascular AMD** (AREDS category 4) with subretinal neovascularisation causing fluid leakage, haemorrhage and subsequent fibrosis. This classification was applied in accordance with contemporary clinical guidelines (Flaxel et al., 2020).

Only participants with complete ophthalmological data were included: best-corrected visual acuity (BCVA, ETDRS letter score), fundus photography, and SD-OCT. Additional clinical and demographic data collected included age, sex, intraocular pressure (IOP), spherical equivalent, and follow-up period.

Exclusion criteria included concomitant ocular disease that could interfere with the study (e.g., diabetic retinopathy,

retiniana com exsudação, hemorragia e fibrose subsequente. Esta classificação foi aplicada de acordo com as recomendações clínicas (Flaxel et al., 2020).

Apenas foram incluídos participantes com dados oftalmológicos completos, nomeadamente: melhor acuidade visual corrigida (MAVC; escala ETDRS), fotografia do fundo ocular e SD-OCT. Foram ainda recolhidos dados clínicos e demográficos adicionais, incluindo idade, sexo, pressão intraocular (PIO), equivalente esférico e período de seguimento.

Os critérios de exclusão incluíram a presença de patologia ocular concomitante com potencial interferência nos resultados (por exemplo, retinopatia diabética, distrofias hereditárias da retina, glaucoma), ametropia elevada (equivalente esférico > -6,00 D ou < +2,00 D), opacidades dos meios ou inflamação ocular. Foram igualmente excluídos doentes com antecedentes de neoplasia, doença autoimune, demência ou outras patologias neurológicas.

2.2 COLHEITA DE SANGUE E PERFIL EPIGENÉTICO

O RNA da colheita de sangue foi extraído com recurso ao kit Quick-RNA™ Whole Blood (Zymo Research, Orange, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. A concentração e pureza do RNA foram avaliadas com um espectrofotómetro NanoDrop One (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). A análise da expressão génica foi realizada por reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real num único passo (RT-qPCR), utilizando o kit NZY Speedy RT-qPCR Green (NZYtech, Lisboa, Portugal), em reações de 20 µL, num sistema CFX Connect™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). Todas as reações foram efetuadas em triplicado, incluindo controlos sem molde. Foram utilizados primers específicos (Tabela 1) dirigidos aos genes DNMT1, DNMT3A e DNMT3B, sendo o gene GAPDH selecionado como gene de referência para normalização, devido à sua expressão estável no sangue periférico. Os primers foram desenhados para abranger junções exon-exon, prevenindo a amplificação de DNA genómico. As condições de amplificação térmica consistiram em 50 °C durante 15 minutos, 95 °C durante 5 minutos, seguidos de 40 ciclos de 95 °C durante 15 segundos e 60 °C durante 45 segundos, com aquisição de fluorescência em cada ciclo. A expressão génica relativa foi calculada pelo método ΔΔCt, normalizando os valores de Ct dos genes-alvo para o Ct médio do GAPDH. Os valores de ΔΔCt foram transformados em logaritmo para representação gráfica.

Tabela/Table 1: Sequências dos primers, números de acesso e comprimento dos produtos amplificados para a análise por RT-qPCR/Primer sequences, accession numbers, and product lengths for qRT-PCR analysis.

Genes	Accession Number *	Forward Primer (5'→3')	Reverse PRIMER (5'→3')	Product Length (bp)
<i>GAPDH</i>	NM_002046.7	GAGTCAACGGATTGGTCGTA	GCAGAGATGATGACCCCTTTTG	349
<i>DNMT1</i>	NM_001379.4	CCTCCAAAACCCAGCCAAC	TCCAGGACCCCTGGGGATTTC	101
<i>DNMT3A</i>	NM_022552.5	CCAAATCGAATCCATGAAA	CTTGCCTTGCTGATGTAGT	140
<i>DNMT3B</i>	NM_175850.3	CGAATTTACCACCTGCTGAATT	AGAACGGCCGGTCATCAC	59

2.3 AVALIAÇÃO QUANTITATIVA POR SD-OCT

A aquisição de imagens foi realizada com um equipamento de tomografia de coerência ótica de domínio espectral (SD-OCT; Spectralis®, Heidelberg Engineering®, Alemanha), com

inherited retinal dystrophies, glaucoma), high ametropia (spherical equivalent > -6.00 D or < +2.00 D), media opacities, or ocular inflammation. Patients with a history of cancer, autoimmune disease, dementia, or other neurological disorders were also excluded.

2.2 BLOOD COLLECTION AND EPIGENETIC PROFILE

Peripheral blood RNA was extracted using the Quick-RNA™ Whole Blood kit (Zymo Research, Orange, CA, USA), according to the manufacturer's instructions. RNA concentration and purity were assessed using a NanoDrop One spectrophotometer (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Gene expression analysis was performed by one-step real-time quantitative PCR (RT-qPCR) using the NZY Speedy RT-qPCR Green kit (NZYtech, Lisbon, Portugal) in 20 µL reactions on a CFX Connect™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

All reactions were performed in triplicate, including non-template controls. Gene-specific primers (Table 1) targeting DNMT1, DNMT3A, and DNMT3B were used, with GAPDH selected as the reference gene for normalization due to its reported stable expression in peripheral blood. Primers were designed to span exon-exon junctions to avoid genomic DNA amplification.

Thermal cycling conditions consisted of 50 °C for 15 min, 95 °C for 5 min, followed by 40 cycles of 95 °C for 15 s and 60 °C for 45 s, with fluorescence acquisition at each cycle. Relative gene expression was calculated using the ΔΔCt method, normalizing target gene Ct values to the mean Ct of GAPDH. ΔΔCt values were log-transformed for graphical representation.

2.3 SD-OCT QUANTITATIVE EVALUATION

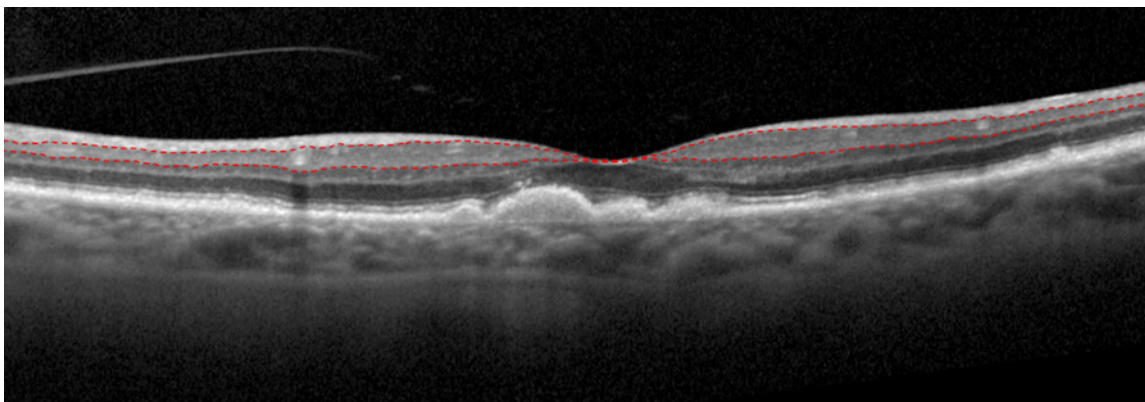
Imaging was performed using spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT; Spectralis®, Heidelberg Engineering®, Germany) with high-density macular raster

protocolo de aquisição de volume macular de alta densidade ($20^\circ \times 20^\circ$), compostos por 49 B-scans horizontais de alta resolução (1024 A-scans por B-scan; resolução axial de $3,9 \mu\text{m}$; média de 7 frames por B-scan). Para a avaliação da coroide, foram adicionalmente adquiridos novos mapas maculares no modo *enhanced depth imaging* (EDI).

A análise estrutural incidiu sobre a espessura combinada da camada de células ganglionares e da camada plexiforme interna (GCL+IPL) e sobre a espessura de coroide, quantificadas nos nove sectores da grelha ETDRS, incluindo o sector central, bem como sobre outros parâmetros derivados do OCT (por exemplo, espessura retiniana total), que não foram considerados na presente análise.

2.4 AVALIAÇÃO COMBINADA DE CÉLULAS GANGLIONARES E CAMADA PLEXIFORME INTERNA

A espessura da GCL+IPL foi calculada como a soma das espessuras da camada de células ganglionares (GCL) e da camada plexiforme interna (IPL), utilizando a segmentação automática disponibilizada pelo software do Spectralis SD-OCT. Sempre que necessário, foi realizada correção manual da segmentação. Os resultados foram analisados nos nove sectores da grelha ETDRS.



Figura/Figure 1: Imagem ilustrativa da segmentação automática da GCL+IPL por SD-OCT/ Illustrative image of the automated segmentation of the GCL+IPL by SD-OCT.

Legenda/Legend: a linha tracejada superior corresponde ao limite interno da GCL, enquanto a linha tracejada inferior corresponde ao limite externo da camada plexiforme interna (IPL)/the upper dashed line corresponds to the inner boundary of the GCL, while the lower dashed line corresponds to the outer boundary of the inner plexiform layer (IPL).

2.5 QUANTIFICAÇÃO DA ESPESSURA DA COROIDE

Para a coroide, tanto na região subfoveal como nos nove sectores da grelha ETDRS, a segmentação foi realizada de forma semi-automática de acordo com o protocolo descrito por Zhao et al. (Figura 2). Este método compreende três etapas principais: em primeiro lugar, procede-se à segmentação automática dos 49 B-scans para quantificação da espessura retiniana total, definida como a distância entre a membrana limitante interna (ILM) e a membrana de Bruch (BM); em segundo, a linha de referência da BM é manualmente deslocada para o limite posterior da coroide, correspondente à interface coroide-esclera (CSI), gerando o mapa da espessura combinada retina-coroide; por fim, a espessura da coroide é obtida subtraindo a espessura retiniana (ILM–BM) à espessura combinada retina-coroide (ILM–CSI), nos nove sectores da grelha ETDRS (Zhao et al., 2020).

volume scans ($20^\circ \times 20^\circ$), consisting of 49 horizontal high-resolution B-scans (1024 A-scans per B-scan; axial resolution $3.9 \mu\text{m}$; 7 frames averaged per B-scan), and additional macular volume scans acquired in enhanced depth imaging (EDI) mode for choroidal assessment.

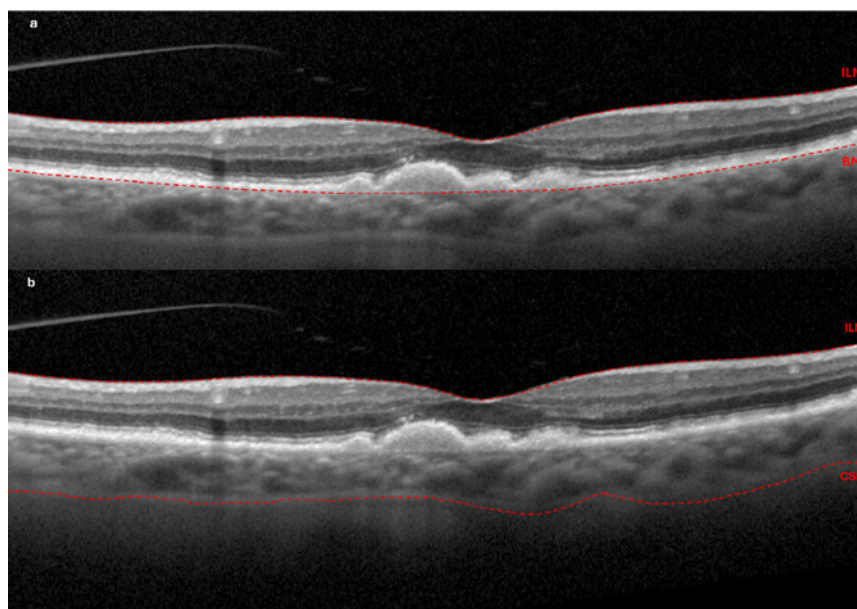
Structural analysis focused on the combined ganglion cell layer and inner plexiform layer thickness (GCL+IPL) and choroidal thickness, quantitatively assessed across the nine sectors of the ETDRS grid, including the central subfield, in addition to other standard OCT-derived metrics (e.g., total retinal thickness), which were not included in the present analysis.

2.4 COMBINED GANGLION CELL LAYER AND INNER PLEXIFORM LAYER

GCL+IPL thickness was calculated as the sum of the ganglion cell layer (GCL) and inner plexiform layer (IPL) thickness, using automated segmentation provided by the Spectralis SD-OCT software. Manual correction was performed when necessary, and results were analyzed across the nine ETDRS grid sectors.

2.5 CHOROIDAL THICKNESS QUANTIFICATION

For the choroid, both in the subfoveal region and across the nine ETDRS grid sectors, segmentation was performed semi-automatically according to the protocol from Zhao et al. (Figure 2). This method consists of three main steps. First, automated segmentation of the 49 B-scans is performed to quantify total retinal thickness, defined as the distance between the internal limiting membrane (ILM) and Bruch's membrane (BM). Second, the reference BM line in the 49 B-scans is manually transposed to the posterior boundary of the choroid (CSI – Choroidoscleral Interface), thereby generating the map corresponding to the combined thickness of retina and choroid. Finally, choroidal thickness is calculated by subtracting retinal thickness (ILM–BM) from the combined retina–choroid thickness (ILM–CSI), across the nine ETDRS grid sectors (Zhao et al., 2020).



Figura/Figure 2: Imagem ilustrativa da segmentação semi-automática da coróide por SD-OCT/Illustrative image of semi-automated choroidal segmentation by SD-OCT.

Legenda/Legend: BM = membrana de Bruch; CSI = interface coróide-escleral; ILM = membrana limitante interna. (a) As linhas de referência indicam a localização da ILM e da BM; (b) a linha de referência da BM em (a) foi manualmente ajustada para a localização da CSI, permitindo obter a espessura combinada retina-coroide (ILM-CSI)/BM = Bruch's Membrane; CSI = Choroidoscleral Interface; ILM = Internal Limiting Membrane. (a) Reference lines indicate the location of the internal limiting membrane (ILM) and Bruch's membrane (BM); (b) the BM reference line in (a) was manually adjusted to the location of the choroidoscleral interface (CSI) to obtain the combined retina-choroid thickness (ILM to CSI).

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados com o *Statistical Package for the Social Sciences* (IBM SPSS, versão 29). Foram calculadas estatísticas descritivas, incluindo média, desvio-padrão, valores mínimo e máximo para as variáveis contínuas (idade, PIO, MAVC, expressão das DNA metiltransferases e espessura da retina e da coróide), bem como frequências absolutas e relativas para as variáveis categóricas (sexo, olho em estudo e subtipo de DMI). O teste do qui-quadrado foi utilizado para avaliar associações entre os grupos de DMI e as variáveis categóricas. Para as variáveis contínuas, e após o estudo da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, foram aplicados os testes ANOVA ou Kruskal-Wallis. As correlações lineares entre a expressão das DNMTs e as restantes variáveis contínuas foram avaliadas através dos coeficientes de correlação de Pearson ou de Spearman, de acordo com a distribuição dos dados. Foi considerado um intervalo de confiança de 95% e um nível de significância de 5% em todas as análises.

3. RESULTADOS

Este estudo incluiu 34 participantes, dos quais 17 (50%) apresentavam DMI não avançada e 17 (50%) DMI avançada. Na tabela 2 podem ser consultadas as principais características sociodemográficas e clínicas dos participantes nos diferentes estádios da doença.

Verificaram-se diferenças na MAVC entre os diferentes estádios da DMI ($p = 0,002$). Os valores médios mais elevados foram observados nos grupos de DMI inicial ($74,3 \pm 6,9$ letras ETDRS) e intermédia ($75,1 \pm 8,9$ letras). Em contraste, verificou-se uma redução da MAVC nas formas avançadas da doença, com valores médios de $51,0 \pm 15,6$ letras nos participantes com DMI atrófica e de $59,4 \pm 16,5$ letras no grupo de DMI neovascular. A avaliação estrutural revelou diferenças estatisticamente

2.6 STATISTICAL ANALYSIS

Data were analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS, version 29). Descriptive statistics were calculated, including mean, standard deviation, minimum, and maximum values for continuous variables (age, IOP, BCVA, DNA methyltransferase expression, and retinal and choroidal thicknesses), and absolute and relative frequencies for categorical variables (sex, study eye, and AMD subtype).

The Chi-square test was applied to assess associations between AMD groups and categorical variables (sex, study eye). For continuous variables, normality was verified using the Shapiro-Wilk test, and either ANOVA or Kruskal-Wallis tests were used, as appropriate. Depending on data distribution, linear correlations between DNMT expression and other continuous variables were evaluated using Pearson's or Spearman's correlation coefficients. A 95% confidence interval and a significant level of 5% were considered for all analyses.

3. RESULTS

This study included 34 participants, of whom 17 (50%) had non-advanced AMD and 17 (50%) had advanced AMD. Table 2 summarizes the sociodemographic and clinical characteristics across the different disease stages.

Best-corrected visual acuity (BCVA) differed significantly across AMD stages ($p = 0,002$). The highest mean values were observed in the early (74.3 ± 6.9 ETDRS letters) and intermediate groups (75.1 ± 8.9 letters). In contrast, reduced BCVA was noted in advanced forms, with mean values of 51 ± 15.6 letters in the atrophic group and 59.4 ± 16.5 letters in the neovascular group.

Structural assessment revealed significant differences in central retinal thickness (CRT; $p = 0,002$). Mean CRT was lowest in atrophic AMD ($204.2 \pm 56.8 \mu\text{m}$) and markedly increased in neovascular AMD ($420.8 \pm 205.7 \mu\text{m}$). A similar pattern was

significativas na espessura retiniana central ($p = 0,002$). A espessura central da retina (CRT) foi mais baixa na DMI atrófica ($204,2 \pm 56,8 \mu\text{m}$) e encontrava-se marcadamente aumentada na DMI neovascular ($420,8 \pm 205,7 \mu\text{m}$). Um padrão semelhante foi observado para a espessura mínima foveal ($p = 0,002$), com os valores mais baixos registados no grupo de DMI atrófica ($142,5 \pm 71,0 \mu\text{m}$) e os valores mais elevados no grupo de DMI neovascular ($368,3 \pm 196,3 \mu\text{m}$).

observed for minimum foveal thickness ($p = 0,002$), with the lowest values recorded in atrophic AMD ($142.5 \pm 71.0 \mu\text{m}$) and the highest in neovascular AMD ($368.3 \pm 196.3 \mu\text{m}$).

Tabela/Table 2: Comparação das características sociodemográficas e clínicas entre os diferentes estádios da DMI/Comparison of sociodemographic and clinical characteristics across AMD stages.

	DMI precoce n=4 (11,7%)	DMI intermédia n=13 (38,2%)	DMI atrófica n=5 (14,7%)	DMI neovascular n=12 (35,2%)	p-value
Idade, anos Média ± DP [min.-máx.]	81,5 ± 6,1 [77 – 90]	80,4 ± 3,6 [76 – 86]	80,7 ± 6,7 [70 – 88]	82,8 ± 5,5 [72 – 89]	0,597
Feminino/masculino n (%)	1 (25) / 3 (75)	3 (20,1) / 10 (76,9)	3 (60) / 2 (40)	5 (41,6) / 6 (58,4)	0,167
Olho estudo, n (%) direito/esquerdo	0 (0) / 4 (100)	5 (38,5) / 8 (61,5)	3 (60) / 2 (40)	6 (50) / 6 (50)	0,337
PIO (mmHg) Média ± DP [min.-max]	14,3 ± 2,6 [12 – 18]	14,4 ± 2,7 [10 – 19]	15,0 ± 1,7 [13 – 18]	13,9 ± 2,9 [10 – 19]	0,596
MAVC, ETDRS Letters Mean ± SD [min.-max]	74,3 ± 6,9 [69 – 84]	75,1 ± 8,9 [60 – 85]	51,0 ± 15,6 [34 – 69]	59,4 ± 16,5 [20 – 75]	0,002
CRT, μm Média ± DP [min.-max]	271,3 ± 33,6 [231 – 311]	292,9 ± 33,2 [250 – 367]	204,2 ± 56,8 [100 – 257]	420,8 ± 205,7 [238 – 855]	0,002
Fóvea, μm Média ± SD [min.-max]	243,4 ± 37,1 [209 – 293]	243,3 ± 27,1 [210 – 310]	142,5 ± 71,0 [20 – 207]	368,3 ± 196,3 [196 – 857]	0,002
GCL+IPL total, μm Média ± SD [min.-max]	61,9 ± 5,5 [58 – 70]	72,5 ± 6,9 [62 – 85]	68,8 ± 4,1 [63 – 73]	71,9 ± 11,9 [50 – 91]	0,129
RNFL Total, μm Média ± SD [min.-max]	23,7 ± 1,9 [21 – 25]	29,9 ± 4,2 [26 – 40]	31,0 ± 7,8 [21 – 43]	34,2 ± 6,3 [22 – 45]	0,012
Coróide Subfoveal, μm Média ± SD [min.-max]	242,5 ± 106,7 [171 – 401]	169,1 ± 66,2 [33 – 270]	154,2 ± 39,4 [111 – 224]	194,3 ± 60,1 [127 – 295]	0,046

Legenda/Legend: GCL+IPL = camada combinada de células ganglionares e camada plexiforme interna; RNFL = camada de fibras nervosas da retina; CRT = espessura retiniana central; DMI = degenerescência macular relacionada com a idade; DP = desvio-padrão; ETDRS = Early Treatment Diabetic Retinopathy Study; AVC = acuidade visual corrigida; Máx = máximo; Min = mínimo; PIO = pressão intraocular. Os valores de idade, PIO, AVC, CRT, fóvea, GCL+IPL total, RNFL total, coróide total e coróide subfoveal são apresentados como média ± desvio-padrão, com os respetivos valores mínimo e máximo. As variáveis categóricas, como sexo e olho em estudo, são expressas em valores absolutos (n) e percentagens (%). Os valores de p foram calculados utilizando os testes de Kruskal-Wallis e do qui-quadrado de Pearson para as variáveis categóricas. Os valores estatisticamente significativos encontram-se destacados a negrito ($p \leq 0,05$)/GCL+IPL = combined Ganglion Cell Layer and Inner Plexiform Layer; RNFL = Retinal Nerve Fiber Layer; CRT = Central Retinal Thickness; AMD = Age-related Macular Degeneration; SD = Standard Deviation; ETDRS = Early Treatment Diabetic Retinopathy Study; BCVA = Best-Corrected Visual Acuity; Max = Maximum; Min = Minimum; IOP = Intraocular Pressure. Values for age, IOP, BCVA, CRT, fovea, total GCL+IPL, total RNFL, total choroid, and subfoveal choroid are presented as mean ± standard deviation, with minimum and maximum ranges. Categorical variables such as sex and study eye are expressed as absolute numbers (n) and percentages (%). p-values were calculated using the Kruskal-Wallis and Pearson's Chi-square tests for categorical variables. Statistically significant values are shown in bold ($p \leq 0,05$).

Relativamente às camadas internas da retina, observou-se um aumento progressivo da espessura total da CFNR ao longo dos diferentes estádios da DMI ($p = 0,012$), com valores mais elevados na DMI atrófica avançada ($31,0 \pm 7,8 \mu\text{m}$) e na DMI neovascular ($34,2 \pm 6,3 \mu\text{m}$), em comparação com a DMI inicial ($23,7 \pm 1,9 \mu\text{m}$). Foram igualmente identificadas diferenças estatisticamente significativas na espessura da coróide subfoveal ($p = 0,046$), a qual apresentou os valores médios mais elevados na DMI inicial ($242,5 \pm 106,7 \mu\text{m}$), diminuindo nos estádios intermédio ($169,1 \pm 66,2 \mu\text{m}$), atrófico ($154,2 \pm 39,4 \mu\text{m}$) e neovascular ($194,3 \pm 60,1 \mu\text{m}$).

For the inner retinal layers, a progressive increase in total RNFL thickness was observed across AMD stages ($p = 0,012$), with advanced atrophic ($31.0 \pm 7.8 \mu\text{m}$) and neovascular AMD ($34.2 \pm 6.3 \mu\text{m}$) presenting higher values compared with early AMD ($23.7 \pm 1.9 \mu\text{m}$). Significant differences were also found in subfoveal choroidal thickness ($p = 0,046$), which was greatest in early AMD ($242.5 \pm 106.7 \mu\text{m}$) and decreased in intermediate stages ($169.1 \pm 66.2 \mu\text{m}$), atrophic ($154.2 \pm 39.4 \mu\text{m}$), and neovascular stages ($194.3 \pm 60.1 \mu\text{m}$).

Table 3 presents comparisons of inner retinal and choroidal

Na tabela 3 pode ser observada a comparação da espessura das camadas internas da retina e da coróide nos diferentes sectores da grelha ETDRS (central, anel interno e anel externo), de acordo com os diferentes estádios da DMI. Foram observadas diferenças significativas na espessura da RNFL no anel interno ($p = 0,042$) e no anel externo ($p = 0,013$). No anel interno, os valores médios mais elevados foram identificados na DMI neovascular ($27,4 \pm 5,9 \mu\text{m}$), comparativamente à DMI inicial ($20,3 \pm 1,6 \mu\text{m}$). De forma semelhante, no anel externo, os valores médios mais elevados foram observados nos estádios avançados, particularmente na DMI neovascular ($44,9 \pm 8,9 \mu\text{m}$), quando comparados com a DMI inicial ($30,3 \pm 2,9 \mu\text{m}$).

thickness across ETDRS sectors (central, inner, and outer) at different AMD stages. Differences were noted in RNFL inner circle ($p = 0.042$) and RNFL outer circle ($p = 0.013$). The highest mean thickness values were observed in neovascular AMD ($27.4 \pm 5.9 \mu\text{m}$) compared with early AMD ($20.3 \pm 1.6 \mu\text{m}$) in the inner circle. Similarly, in the outer circle, the highest mean thickness values were found in advanced stages, particularly in neovascular AMD ($44.9 \pm 8.9 \mu\text{m}$) compared with early AMD ($30.3 \pm 2.9 \mu\text{m}$).

Tabela/Table 3: Comparação da espessura das camadas internas da retina e da coróide nos diferentes sectores da grelha ETDRS, de acordo com os estádios da DMI/Comparison of inner retinal and choroidal thickness across ETDRS sectors in different AMD stages.

	DMI precoce n=4 (11,7%)	DMI intermédia n=13 (38,2%)	DMI atrófica n=5 (14,7%)	DMI neovascular n=12 (35,2%)	p-value
RNFL anel central, μm Médin \pm DP [min.-max]	10,8 \pm 2,9 [14 - 7]	15,3 \pm 2,8 [11 - 21]	14,5 \pm 3,8 [11 - 20]	18,4 \pm 7,1 [6 - 29]	0,074
RNFL anel interno, μm Médin \pm DP [min.-max]	20,3 \pm 1,6 [18 - 21]	23,7 \pm 5,3 [20 - 39]	25,4 \pm 6,0 [19 - 36]	27,4 \pm 5,9 [15 - 35]	0,042
RNFL anel externo μm Médin \pm DP [min.-max]	30,3 \pm 2,9 [26 - 32]	39,7 \pm 4,7 [34 - 46]	40,7 \pm 11,1 [27 - 57]	44,9 \pm 8,9 [32 - 59]	0,013
GCL anel central, μm Médin \pm DP [min.-max]	13,3 \pm 5,7 [8 - 20]	13,3 \pm 5,1 [9 - 27]	15,2 \pm 4,3 [11 - 22]	21,3 \pm 6,0 [11 - 29]	0,065
GCL anel interno, μm Médin \pm DP [min.-max]	40,8 \pm 5,6 [34 - 48]	50,2 \pm 4,9 [42 - 60]	45,1 \pm 6,8 [38 - 56]	44,6 \pm 10,3 [20 - 61]	0,055
GCL anel externo, μm Médin \pm DP [min.-max]	29,3 \pm 2,3 [27 - 32]	34,2 \pm 2,9 [30 - 40]	34,2 \pm 2,4 [31 - 37]	31,9 \pm 4,7 [21 - 40]	0,047
GCL+IPL anel central, μm Médin \pm DP [min.-max]	31,3 \pm 9,3 [22 - 43]	37,3 \pm 8,9 [25 - 50]	33,3 \pm 6,3 [25 - 42]	44,0 \pm 6,7 [33 - 52]	0,033
GCL+IPL anel interno, μm Médin \pm DP [min.-max]	76,6 \pm 7,3 [70 - 86]	91,0 \pm 9,3 [78 - 110]	84,2 \pm 7,8 [72 - 93]	87,1 \pm 17,7 [56 - 120]	0,106
GCL+IPL anel externo, μm Médin \pm DP [min.-max]	54,9 \pm 3,5 [52 - 60]	62,7 \pm 5,7 [54 - 74]	62,3 \pm 2,7 [58 - 65]	63,6 \pm 9,1 [49 - 75]	0,136
Choroide anel central, μm Médin \pm DP [min.-max]	223,3 \pm 94,0 [138 - 357]	168,1 \pm 36,8 [84 - 218]	152,5 \pm 38,4 [105 - 215]	173,8 \pm 62,7 [53 - 280]	0,469
Choroide anel interno, μm Médin \pm DP [min.-max]	211,8 \pm 81,5 [135 - 326]	157,1 \pm 37,1 [89 - 220]	149,7 \pm 37,9 [93 - 201]	171,1 \pm 54,3 [99 - 257]	0,480
Choroide anel externo, μm Médin \pm DP [min.-max]	189,8 \pm 77,7 [129 - 302]	154,0 \pm 35,3 [97 - 204]	154,6 \pm 27,2 [107 - 191]	165,9 \pm 41,1 [109 - 225]	0,813

Legenda/Legend: GCL+IPL = camada combinada de células ganglionares e camada plexiforme interna; RNFL = camada de fibras nervosas da retina; DMI = degenerescência macular relacionada com a idade; DP = desvio-padrão; Máx = máximo; Mín = mínimo. Os valores de p foram calculados utilizando o teste de Kruskal-Wallis. Os valores estatisticamente significativos encontram-se destacados a negrito ($p \leq 0,05$)/GCL+IPL = combined Ganglion Cell Layer and Inner Plexiform Layer; RNFL = Retinal Nerve Fiber Layer; AMD = Age-related Macular Degeneration; SD = Standard Deviation; Max = Maximum; Min = Minimum. p-values were calculated using the Kruskal-Wallis. Statistically significant values are shown in bold ($p \leq 0.05$).

Na análise isolada da camada de células ganglionares (GCL) observaram-se apenas diferenças ligeiras no anel externo ($p = 0,047$). De forma diferente, a avaliação combinada da camada de células ganglionares e da camada plexiforme interna (GCL+IPL) evidenciou diferenças mais consistentes no sector central ($p = 0,033$), com valores médios de espessura superiores

Only slight differences were observed in the outer circle when analyzing the ganglion cell layer (GCL) in isolation ($p = 0.047$). In contrast, combined Ganglion Cell Layer and Inner Plexiform Layer (GCL+IPL) revealed significant differences in the central circle ($p = 0.033$), with higher mean thickness values detected in advanced neovascular AMD ($44.0 \pm 6.7 \mu\text{m}$)

na DMI neovascular ($44,0 \pm 6,7 \mu\text{m}$) em comparação com os restantes estádios.

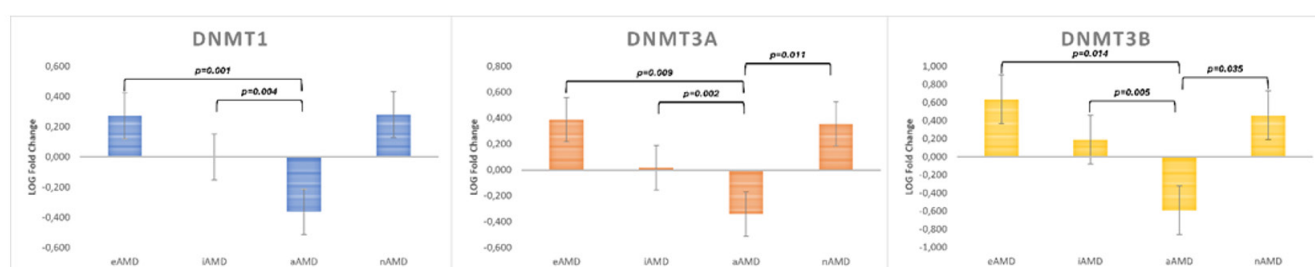
Embora as diferenças na espessura da coroide não tenham sido estatisticamente significativas, os estádios avançados da DMI apresentaram valores médios inferiores aos observados na DMI inicial. Entre os subtipos avançados, a DMI atrófica apresentou a menor espessura.

A Figura 3 ilustra os padrões de expressão transcripcional dos moduladores epigenéticos avaliados na coorte estudada. Relativamente à *DNMT1*, observou-se uma redução significativa da expressão na DMI atrófica quando comparada com a DMI inicial ($p = 0,001$) e intermédia ($p = 0,004$). No caso da *DNMT3A*, foi igualmente identificada uma diminuição da expressão na DMI atrófica relativamente à DMI inicial ($p = 0,009$), intermédia ($p = 0,002$) e neovascular ($p = 0,011$). Um padrão semelhante foi observado para a *DNMT3B*, com expressão significativamente reduzida na DMI atrófica em comparação com os estádios inicial ($p = 0,014$), intermédio ($p = 0,005$) e neovascular ($p = 0,035$).

compared with the other stages.

Although differences did not reach statistical significance in choroidal thickness, the advanced AMD stages presented lower mean values than the early AMD group. Within the advanced subtypes, the lowest mean choroidal thickness was found in atrophic AMD.

Figure 3 illustrates the transcriptional patterns of epigenetic modulators obtained in the study cohort. For *DNMT1*, atrophic AMD expression was significantly reduced compared to early ($p = 0.001$) and intermediate AMD ($p = 0.004$). For *DNMT3A*, decreased expression was observed in atrophic AMD relative to early ($p = 0.009$), intermediate ($p = 0.002$), and neovascular AMD ($p = 0.011$). A similar pattern was identified for *DNMT3B*, with reduced expression in atrophic AMD compared with early ($p = 0.014$), intermediate ($p = 0.005$), and neovascular stages ($p = 0.035$).



Figura/Figure 3: Expressão relativa dos genes das DNA metiltransferases nos diferentes estádios da DMI/Relative expression of DNA methyltransferase genes across all AMD stages. **Legenda/Legend:** (a) Expressão da DNMT1; (b) expressão da DNMT3A; e (c) expressão da DNMT3B. O gene GAPDH foi utilizado para normalização (valores de $\Delta\Delta\text{Ct}$ transformados em logaritmo). Os valores de p foram calculados pelo teste de Kruskal-Wallis com comparações múltiplas./(a) DNMT1 expression; (b) DNMT3a expression; and (c) DNMT3b expression. GAPDH was used for normalization ($\Delta\Delta\text{Ct}$ values were log-transformed). Significant p -values were calculated by Kruskal-Wallis using multiple comparisons.

A Tabela 4 apresenta as correlações entre a expressão das DNA metiltransferases e as principais variáveis do estudo, estratificadas por estádio de DMI. No grupo de DMI intermédia, foram observadas correlações relevantes entre a expressão das DNMTs e a estrutura retiniana. A expressão da *DNMT1* revelou uma correlação positiva estatisticamente significativa com a espessura central da camada de células ganglionares (GCL) ($r = 0,561$; $p = 0,045$) e com a espessura central combinada da GCL+IPL ($r = 0,619$; $p = 0,032$). Em contraste, as DNA metiltransferases de novo (*DNMT3A* e *DNMT3B*) apresentaram correlações negativas com a espessura central da RNFL ($r = -0,658$; $p = 0,020$) e com a MAVC ($r = -0,625$; $p = 0,030$).

Na DMI neovascular, foi identificado um padrão inverso, no qual a expressão da *DNMT1* apresentou correlações negativas estatisticamente significativas com a espessura média da GCL ($r = -0,568$; $p = 0,044$), com a espessura central combinada da GCL+IPL ($r = -0,725$; $p = 0,008$) e com a espessura da GCL+IPL no anel externo ($r = -0,568$; $p = 0,047$).

Table 4 presents the correlation between DNA methyltransferase expression and the main study variables, stratified by AMD stage. In intermediate AMD, relevant correlations were observed between DNMTs and retinal structure. *DNMT1* expression showed a significant positive correlation with central GCL thickness ($r = 0.561$; $p = 0.045$) and central GCL+IPL thickness ($r = 0.619$; $p = 0.032$). In contrast, the *de novo* methyltransferases *DNMT3A* and *DNMT3B* demonstrated negative correlations with central RNFL thickness ($r = -0.658$; $p = 0.020$) and BCVA ($r = -0.625$; $p = 0.030$).

Tabela/Table 4: Correlação entre variáveis clínicas e estruturais e a expressão das DNMTs nos grupos de DMI inicial, intermédia, atrófica e neovascular/Correlação entre variáveis clínicas e estruturais e a expressão das DNMTs nos grupos de DMI inicial, intermédia, atrófica e neovascular.

	DMI precoce n=4 (11,7%)			DMI intermédia n=13 (38,2%)			DMI atrófica n=5 (14,7%)			DMI neovascular n=12 (35,2%)		
	DNMT1	DNMT3A	DNMT3B	DNMT1	DNMT3A	DNMT3B	DNMT1	DNMT3A	DNMT3B	DNMT1	DNMT3A	DNMT3B
Idade, correlação Valor p	-0,680 0,320	-0,862 0,132	-0,154 0,846	0,099 0,760	-0,229 0,474	-0,333 0,290	-0,259 0,620	-0,767 0,075	-0,336 0,515	-0,174 0,594	-0,076 0,815	-0,158 0,624
Fóvea, correlação Valor p	-0,201 0,799	0,473 0,527	0,473 0,527	0,163 0,614	-0,273 0,390	-0,273 0,390	-0,428 0,397	-0,170 0,748	-0,170 0,748	0,255 0,423	-0,470 0,123	-0,470 0,123
CRT, correlação Valor p	-0,426 0,574	0,527 0,473	0,527 0,473	0,385 0,217	-0,283 0,373	-0,283 0,373	0,407 0,424	0,171 0,746	0,171 0,746	0,281 0,376	-0,508 0,092	-0,508 0,092
MAVC, correlação p-value	0,920 0,080	-0,448 0,552	-0,448 0,552	-0,322 0,307	-0,625 0,030	-0,625 0,030	0,483 0,332	0,422 0,405	0,422 0,405	-0,545 0,067	-0,141 0,661	-0,142 0,661
RFNL central, correlação Valor p	-0,509 0,491	0,591 0,409	0,591 0,409	0,060 0,853	-0,658 0,020	-0,658 0,020	-0,368 0,472	0,774 0,071	0,774 0,071	-0,355 0,257	0,602 0,038	0,602 0,038
RFNL interno, correlação Valor p	0,561 0,439	-0,819 0,181	-0,819 0,181	0,057 0,859	-0,367 0,240	-0,367 0,240	0,303 0,559	0,569 0,239	0,569 0,239	-0,554 0,062	0,275 0,387	0,275 0,387
RFNL externo, correlação Valor p	0,927 0,073	-0,808 0,192	-0,808 0,192	-0,088 0,786	-0,277 0,384	-0,277 0,384	0,368 0,473	0,429 0,396	0,429 0,396	-0,510 0,091	-0,162 0,615	-0,162 0,615
GCL central, correlação p-value	-0,307 0,693	0,658 0,342	0,658 0,342	0,561 0,045	-0,101 0,754	-0,101 0,754	0,326 0,529	-0,060 0,911	-0,060 0,911	-0,568 0,044	0,283 0,373	0,283 0,373
GCL interno, correlação p-value	0,455 0,545	0,131 0,869	0,131 0,869	0,448 0,144	-0,108 0,738	-0,108 0,738	0,614 0,195	0,279 0,592	0,279 0,592	-0,315 0,319	0,233 0,467	0,233 0,467
GCL externo, correlação p-value	0,522 0,478	-0,026 0,974	-0,026 0,974	0,453 0,139	-0,400 0,197	-0,400 0,197	0,363 0,480	0,557 0,251	0,557 0,251	-0,452 0,141	0,445 0,147	0,445 0,147
GCL+IPL central, correlação p-value	-0,291 0,709	0,553 0,447	0,553 0,447	0,619 0,032	-0,218 0,497	-0,218 0,497	0,460 0,359	-0,254 0,627	-0,254 0,627	-0,725 0,008	0,108 0,737	0,108 0,737
GCL+IPL interno, correlação p-value	0,511 0,489	-0,063 0,937	-0,063 0,937	0,509 0,091	-0,129 0,690	-0,129 0,690	0,635 0,175	-0,157 0,766	-0,157 0,766	-0,317 0,315	0,133 0,681	0,133 0,681
GCL+IPL externo, correlação p-value	0,442 0,558	-0,200 0,800	-0,200 0,800	0,548 0,065	-0,379 0,224	-0,379 0,224	0,304 0,558	0,302 0,561	0,302 0,561	-0,568 0,047	0,390 0,210	0,390 0,210
Coroide subfoveal, correlação p-value	0,246 0,754	0,038 0,962	0,038 0,962	-0,145 0,652	-0,427 0,166	-0,427 0,166	0,059 0,912	0,257 0,623	0,257 0,623	-0,340 0,280	0,069 0,832	0,069 0,832
Coroide central, correlação p-value	0,475 0,525	-0,254 0,746	-0,254 0,746	-0,415 0,180	-0,361 0,249	-0,361 0,249	-0,331 0,521	0,005 0,992	0,005 0,992	-0,167 0,603	0,267 0,401	0,267 0,401
Coroide inner, correlação p-value	0,507 0,493	-0,281 0,719	-0,281 0,719	-0,056 0,863	-0,474 0,120	-0,474 0,120	-0,461 0,358	-0,072 0,892	-0,072 0,892	-0,222 0,488	0,238 0,457	0,238 0,457
Coroide outer, correlação p-value	0,741 0,529	-0,154 0,846	-0,154 0,846	0,006 0,986	-0,446 0,146	-0,446 0,146	-0,417 0,410	-0,340 0,510	-0,340 0,510	-0,435 0,158	0,166 0,606	0,166 0,606

Legenda/Legend: GCL+IPL = camada combinada de células ganglionares e camada plexiforme interna; RNFL = camada de fibras nervosas da retina; CRT = espessura retiniana central; DMI = degenerescência macular relacionada com a idade. Os valores correspondem aos coeficientes de correlação de Pearson (linha "correlação") e aos respetivos valores de significância estatística (linha "p-valor")/GCL+IPL = Combined Ganglion Cell Layer and Inner Plexiform Layer; RNFL = Retinal Nerve Fiber Layer; CRT = Central Retinal Thickness; AMD = Age-related Macular Degeneration. Values correspond to Pearson's correlation coefficients (row "correlation") and their respective significance values (row "p-value").

Na DMI neovascular, foi identificado um padrão inverso, no qual a expressão da *DNMT1* apresentou correlações negativas estatisticamente significativas com a espessura média da GCL ($r = -0,568$; $p = 0,044$), com a espessura central combinada da GCL+IPL ($r = -0,725$; $p = 0,008$) e com a espessura da GCL+IPL no anel externo ($r = -0,568$; $p = 0,047$).

In neovascular AMD, an inverse pattern was observed, with *DNMT1* expression showing significant negative correlations with mean central GCL thickness ($r = -0,568$; $p = 0,044$), central GCL+IPL thickness ($r = -0,725$; $p = 0,008$), and outer GCL+IPL thickness ($r = -0,568$; $p = 0,047$).

4. DISCUSSÃO

Embora o envolvimento de genes específicos na DMI esteja bem documentado, estima-se que estes expliquem apenas cerca de 40–60% da variabilidade da doença (Fritsche et al., 2014), o que reforça a relevância dos fatores ambientais e potencialmente modificáveis. Neste contexto, os mecanismos epigenéticos têm suscitado um interesse crescente na compreensão da etiologia e progressão da DMI, ao constituírem uma interface dinâmica entre o genoma e o ambiente (Baird and Wei, 2013). Padrões diferenciais de expressão das DNMTs têm sido recentemente descritos ao longo dos diferentes estádios da DMI, sugerindo que vias moleculares distintas poderão desempenhar papéis específicos em fases particulares da doença.

Partindo desta premissa, o presente estudo avaliou se os níveis de expressão da DNMT1, DNMT3A e DNMT3B, previamente associados a diferentes estádios da DMI, se correlacionam com alterações vasculares e/ou neurodegenerativas, avaliadas através de parâmetros coróides e da camada combinada de células ganglionares e camada plexiforme interna (GCL+IPL), medidos por SD-OCT.

Apesar da dimensão da amostra relativamente reduzida, e distribuída de forma equilibrada entre DMI não avançada (50%) e avançada (50%), a estratificação pelos subgrupos resultou em alguma assimetria: DMI inicial ($n = 4$), intermédia ($n = 13$), atrófica ($n = 5$) e neovascular ($n = 12$). No entanto, não foram identificadas diferenças significativas quanto à idade e ao sexo, variáveis reconhecidamente associadas à prevalência e gravidade da DMI (Fleckenstein, Schmitz-Valckenberg e Chakravarthy, 2024), minimizando efeitos de viés na interpretação dos resultados.

Tal como esperado no contexto do envelhecimento, observaram-se diferenças funcionais e estruturais relevantes (Wood et al., 2011). Do ponto de vista funcional, a MAVC diferiu significativamente entre os estádios da DMI ($p = 0,002$), com melhores valores obtidos na DMI inicial ($74,3 \pm 6,9$) e intermédia ($75,1 \pm 8,9$), e menores valores nas formas avançadas (atrófica: $51,0 \pm 15,6$; neovascular: $59,4 \pm 16,5$). De forma congruente, observaram-se diferenças significativas estruturais na CRT ($p = 0,002$) e na espessura mínima foveal ($p = 0,002$), evidenciando dois padrões distintos: um aumento marcado da CRT e da espessura foveal na DMI neovascular ($420,8 \pm 205,7 \mu\text{m}$; $368,1 \pm 196,3 \mu\text{m}$) e diminuição de espessura na DMI atrófica ($204,2 \pm 56,8 \mu\text{m}$; $142,5 \pm 71,0 \mu\text{m}$). Estes achados refletem características fenotípicas bem descritas, associadas à exsudação na DMI neovascular e à atrofia de diferentes estruturas na DMI atrófica (Salehi et al., 2023).

A análise do impacto das alterações relacionadas com a idade e com a DMI nas camadas neurais internas da retina (Nieves-Moreno et al., 2018) revelou-se metodologicamente desafiante, seja pelo reduzido tamanho da amostra quer pelo desequilíbrio entre os subgrupos estudados. Ainda assim, verificaram-se alguns padrões de estruturas relevantes, que justificam uma investigação adicional em estudos futuros com amostras mais robustas e com desenho longitudinal.

Na análise da RNFL verificou-se um aumento progressivo ao longo dos diferentes estádios da DMI. Embora o espessamento

4. DISCUSSION

Although the involvement of specific genes in AMD is well documented, they are estimated to explain only 40–60% of disease variability (Fritsche et al., 2014). This highlights the importance of environmental and modifiable factors. In this context, epigenetic mechanisms have attracted increasing attention in the understanding of AMD etiology and progression (Baird and Wei, 2013). Differential DNMT expression patterns have recently been described across disease stages, suggesting that distinct molecular pathways may play specific roles in different phases.

Based on this premise, the present study evaluated whether the expression levels of DNMT1, DNMT3A, and DNMT3B, previously associated with various AMD stages, correlate with vascular and/or neurodegenerative changes assessed through choroidal and GCL+IPL parameters measured by SD-OCT.

Despite the relatively small sample size, equally distributed between non-advanced (50%) and advanced AMD (50%), stratification resulted in slightly uneven subgroups: early ($n = 4$), intermediate ($n = 13$), atrophic ($n = 5$), and neovascular ($n = 12$). However, no significant differences were found for age and sex, variables influencing AMD prevalence and severity (Fleckenstein, Schmitz-Valckenberg e Chakravarthy, 2024), minimizing potential bias in interpreting the results.

As expected with ageing, both functional and structural differences were observed (Wood et al., 2011). Functionally, BCVA differed significantly across AMD stages ($p = 0.002$), with the best ETDRS letter scores in early (74.3 ± 6.9) and intermediate AMD (75.1 ± 8.9), and reduced scores in advanced forms (atrophic: 51 ± 15.6 ; neovascular: 59.4 ± 16.5). Structurally, significant differences were found in CRT ($p = 0.002$) and minimum foveal thickness ($p = 0.002$). Two distinct patterns were evident: markedly increased CRT and foveal thickness in neovascular AMD ($420.8 \pm 205.7 \mu\text{m}$; $368.13 \pm 196.3 \mu\text{m}$), and pronounced thinning in atrophic AMD ($204.2 \pm 56.8 \mu\text{m}$; $142.5 \pm 71.0 \mu\text{m}$). These results reflect well-described phenotypic features, with exudation in neovascular AMD and thinning in atrophic AMD (Salehi et al., 2023).

The possibility of investigating the impact of age-related characteristics and AMD on the inner neural layers (Nieves-Moreno et al., 2018) proved to be challenging due to the small sample size and subgroup imbalance. Nevertheless, some interesting thickness patterns emerged that warrant further exploration.

Analysis of total RNFL showed a progressive increase with disease stage. While thickening in neovascular AMD was expected due to intraretinal fluid, the higher values observed in atrophic AMD contrast with analogous studies reporting RNFL thinning in patients progressing to advanced atrophy, particularly in the inner and outer circles (Costa et al., 2025). Although the cross-sectional design prevents assessment of progression rate, the observed increases in the inner circle ($p = 0.042$) and outer circle ($p = 0.013$) may suggest an inflammatory contribution in intermediate and atrophic AMD. Inner circle values were highest in neovascular AMD ($27.4 \pm 5.9 \mu\text{m}$), reflecting macular oedema, whereas intermediate ($23.7 \pm 5.3 \mu\text{m}$) and atrophic ($25.4 \pm 6.0 \mu\text{m}$) AMD also showed higher values than early AMD ($20.3 \pm 1.6 \mu\text{m}$), supporting inflammatory

observado na DMI neovascular seja expectável, atendendo à presença de fluido intrarretiniano, os valores mais elevados identificados na DMI atrófica contrastam com estudos análogos que descrevem uma atrofia da RNFL em doentes em progressão para atrofia avançada, particularmente nos anéis interno e externo da grelha ETDRS (Costa et al., 2025). Apesar desta abordagem transversal não permitir avaliar a taxa de progressão, os aumentos observados no anel interno ($p = 0,042$) e no anel externo ($p = 0,013$) poderão sugerir um contributo inflamatório nas fases intermédia e atrófica da DMI. No anel interno, os valores mais elevados foram observados na DMI neovascular ($27,4 \pm 5,9 \mu\text{m}$), refletindo edema macular, enquanto a DMI intermédia ($23,7 \pm 5,3 \mu\text{m}$) e a DMI atrófica ($25,4 \pm 6,0 \mu\text{m}$) apresentaram igualmente valores superiores aos da DMI inicial ($20,3 \pm 1,6 \mu\text{m}$), reforçando a hipótese do envolvimento de mecanismos inflamatórios. Um padrão semelhante foi observado no anel externo, com maior espessamento na DMI neovascular ($44,9 \pm 8,9 \mu\text{m}$) e na DMI atrófica ($40,7 \pm 11,1 \mu\text{m}$), em comparação com a doença em fase inicial ($30,3 \pm 2,9 \mu\text{m}$).

O estudo da GCL+IPL, atendendo à sua elevada densidade celular na região macular, tem suscitado interesse crescente no contexto da neurodegenerescência retiniana (Nguyen-Ba-Charvet and Rebsam, 2020). No presente estudo, a análise isolada da GCL revelou apenas diferenças ligeiras no anel externo ($p = 0,047$), com valores superiores na DMI neovascular ($31,9 \pm 4,7 \mu\text{m}$). Relativamente à GCL+IPL, foram identificadas diferenças significativas no sector central ($p = 0,033$), novamente com maior espessura média na DMI neovascular avançada ($44,0 \pm 6,7 \mu\text{m}$), quando comparada com os restantes estádios. Contudo, possivelmente devido à dimensão do grupo de DMI exsudativa na nossa coorte, estes resultados diferem parcialmente de outros estudos que descrevem adelgaçamento da GCL+IPL, sobretudo na DMI atrófica ou em fases mais precoces da doença (Farinha et al., 2021).

A avaliação da coroide apresentou desafios adicionais, decorrentes da elevada variabilidade associada à idade (Wood et al., 2011), das particularidades metodológicas da sua medição (Govetto et al., 2017; Manjunath et al., 2011) e da inconsistência de resultados descritos na literatura (Koh et al., 2017). Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas entre os sectores da grelha ETDRS, verificou-se uma tendência clara de diminuição de espessura progressiva da coroide ao longo dos diferentes estádios da DMI. A espessura da coroide subfoveal revelou diferenças significativas ($p = 0,046$), com valores mais elevados na DMI inicial ($242,5 \pm 106,7 \mu\text{m}$) e redução progressiva na DMI intermédia ($169,1 \pm 66,2 \mu\text{m}$), neovascular ($194,3 \pm 60,1 \mu\text{m}$) e atrófica ($154,2 \pm 39,4 \mu\text{m}$). Estes resultados estão em consonância com os de Sadeghi, que atribuem uma diminuição de espessura da coroide à perda vascular e à atrofia do EPR nos estádios avançados, refletindo o padrão atrófico classicamente descrito (Sadeghi et al., 2025; Schmidt-Erfurth et al., 2024; Wood et al., 2011).

Em contraste, o aumento da espessura da coroide frequentemente descrito na DMI neovascular, associado a processos inflamatórios e angiogénicos, não foi observado no presente estudo. Tal facto poderá ser explicado pela utilização generalizada de terapêutica anti-VEGF na nossa coorte de DMI neovascular, a qual está associada à diminuição da coroide secundária à regressão neovascular e/ou a processos de

involvement. A similar pattern was seen in the outer circle, with the greatest thickening in neovascular ($44.9 \pm 8.9 \mu\text{m}$) and atrophic AMD ($40.7 \pm 11.1 \mu\text{m}$) compared with early disease ($30.3 \pm 2.9 \mu\text{m}$).

The GCL+IPL, given its higher cellular density in the macula, has also drawn increasing interest (Nguyen-Ba-Charvet and Rebsam, 2020). In this study, isolated GCL thickness showed slight differences in the outer circle ($p = 0.047$), with greater values in neovascular AMD ($31.9 \pm 4.7 \mu\text{m}$). For the GCL+IPL, differences were detected in the central circle ($p = 0.033$), again with higher mean thickness in advanced neovascular AMD ($44.0 \pm 6.7 \mu\text{m}$) compared with other stages. However, possibly due to the overrepresentation of exudative AMD in our cohort, these findings differed slightly from other reports that have shown GCL+IPL thinning, particularly in atrophic AMD or earlier stages (Farinha et al., 2021).

Choroidal assessment posed additional challenges, given age-related (Wood et al., 2011), measurement particularities (Govetto et al., 2017; Manjunath et al., 2011), and inconsistent findings in the literature (Koh et al., 2017). Although no significant differences were observed across ETDRS sectors, a clear trend of progressive thinning emerged across AMD stages. Subfoveal choroidal thickness did show significant differences ($p = 0.046$), with the highest values in early AMD ($242.5 \pm 106.7 \mu\text{m}$) and reduced values in intermediate ($169.1 \pm 66.2 \mu\text{m}$), atrophic ($154.2 \pm 39.4 \mu\text{m}$), and neovascular AMD ($194.3 \pm 60.1 \mu\text{m}$). These results align with Sadeghi, who attributed thinning to vascular loss and RPE atrophy in advanced stages, consistent with the classic atrophic pattern already described (Sadeghi et al., 2025; Schmidt-Erfurth et al., 2024; Wood et al., 2011). Conversely, the choroidal thickening often reported in neovascular AMD, associated with inflammatory and angiogenic processes, was not observed here—likely due to the widespread use of anti-VEGF therapy in our neovascular cohort, known to induce choroidal thinning through neovessel regression and fibrotic remodeling (Koh et al., 2017; Sadeghi et al., 2025). Our findings support the hypothesis of vascular impairment in AMD progression, with choroidal thinning reflecting hypoxic and ischemic processes at the RPE (Govetto et al., 2017).

4.1 CORRELATION OF DNMT EXPRESSION WITH STRUCTURAL FINDINGS ACROSS AMD STAGES

In the epigenetic framework of AMD, several studies have identified both hyper- and hypomethylation marks, underscoring the complexity of the pathways involved (Wu et al., 2024). Our group has recently reported differential expression of epigenetic regulators (DNMTs) across AMD stages, with distinct patterns in advanced forms (atrophic and neovascular AMD) highlighting potentially divergent mechanisms (Camacho et al., 2025).

Consistent with previous work, significant downregulation of DNMT1 was found in atrophic AMD compared with intermediate ($p = 0.004$) and early AMD ($p = 0.001$). This downregulation may reflect changes in maintenance methylation in advanced atrophic stages characterized by increased chronic oxidative stress, complement activation, and RPE cell loss. This may be linked to upregulation of the

remodelação fibrótica (Koh et al., 2017; Sadeghi et al., 2025). No seu conjunto, estes achados sustentam a hipótese de compromisso vascular na progressão da DMI, com a diminuição de espessura da coróide a refletir processos hipóxicos e isquémicos ao nível do EPR (Govetto et al., 2017)

4.1 CORRELAÇÃO DA EXPRESSÃO DAS DNMTS COM OS ACHADOS ESTRUTURAIS AO LONGO DOS DIFERENTES ESTÁDIOS DA DMI

No enquadramento epigenético da DMI, vários estudos têm identificado marcas tanto de hipermetilação como de hipometilação, sublinhando a complexidade das vias moleculares envolvidas na doença (Wu et al., 2024). O nosso grupo descreveu recentemente padrões diferenciais de expressão de reguladores epigenéticos (DNMTs) ao longo dos diferentes estádios da DMI, com perfis distintos nas formas avançadas (atrófica e neovascular), sugerindo a ativação de mecanismos patofisiológicos divergentes (Camacho et al., 2025).

De forma consistente com trabalhos prévios, foi observada uma diminuição significativa da expressão da DNMT1 na DMI atrófica, quando comparada com a DMI intermédia ($p = 0,004$) e inicial ($p = 0,001$). Esta redução poderá refletir alterações nos mecanismos de metilação de manutenção em fases atróficas avançadas, caracterizadas pelo aumento do stress oxidativo crónico, da ativação do sistema complemento e pela perda progressiva de células do EPR. Este fenómeno poderá estar relacionado com a sobre-expressão da cascata do complemento, reconhecida como um dos principais motores da patogénese da DMI pathogenesis (Kumar-Singh, 2019). Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas entre a DMI atrófica e a DMI neovascular, foi identificada uma tendência para aumento da expressão da DNMT1 nesta última. A hipermetilação associada à DNMT1 já foi associada à diminuição da expressão de SIRT1 e Oct4 em retinas envelhecidas e células do EPR de doentes com DMI (Peng et al., 2011) podendo estar associada a vias de sinalização inflamatória, proliferação celular e processos angiogénicos característicos da DMI neovascular. Atendendo ao papel predominante do stress oxidativo (Maugeri et al., 2018) e do sistema complemento na DMI atrófica, era igualmente expectável a diminuição da expressão das DNMTs de novo, em concordância com estudos anteriores que associam a redução da DNMT3A e DNMT3B à disfunção do EPR e ao stress oxidativo em estádios avançados da doença (Camacho et al., 2025).

No presente estudo, as DNMTs de novo apresentaram um perfil semelhante, com uma diminuição significativa da expressão da DNMT3A na DMI atrófica em comparação com a DMI inicial ($p = 0,009$), intermédia ($p = 0,002$) e neovascular ($p = 0,011$). A DNMT3B seguiu o mesmo padrão, com expressão reduzida relativamente aos estádios inicial ($p = 0,014$), intermédio ($p = 0,005$) e neovascular ($p = 0,035$). Embora a diminuição da expressão da DNMT3A/3B seja consistente com achados anteriores, o aumento observado na DMI neovascular poderá estar em consonância com os resultados anteriores (Li et al., 2020) que descreveram a ativação de vias inflamatórias e angiogénicas associadas à hipermetilação do gene TGFB2. O aumento da expressão de TGFB2 em células do EPR tem sido implicado na promoção de processos fibróticos semelhantes à

complement cascade, a recognized driver of AMD pathogenesis (Kumar-Singh, 2019). Although differences were not significant in neovascular AMD compared to aAMD, an upregulation trend of DNMT1 was observed. DNMT1 hypermethylation has been associated with decreased SIRT1 and Oct4 expression in AMD patients' ageing retinas and RPE cells (Peng et al., 2011) and may be related to inflammatory signaling, cellular proliferation and angiogenic processes present in neovascular AMD stages. Given the predominant role of oxidative stress (Maugeri et al., 2018) and complement in atrophic AMD, downregulation of de novo DNMTs was also anticipated, consistent with previous reports linking reduced DNMT3A/3B expression with RPE dysfunction and oxidative stress in advanced stages (Camacho et al., 2025).

In this study, de novo DNMTs showed a similar profile, with significant DNMT3A downregulation in atrophic AMD compared with early ($p = 0.009$), intermediate ($p = 0.002$), and neovascular ($p = 0.011$) stages. DNMT3B followed the same pattern, with reduced expression relative to early ($p = 0.014$), intermediate ($p = 0.005$), and neovascular ($p = 0.035$) AMD. While DNMT3A/3B downregulation is consistent with previous findings, the upregulation observed in neovascular AMD may align with previous data (Li et al., 2020) who described inflammatory and angiogenic pathways associated with TGFB2 hypermethylation. Increased TGFB2 expression in RPE cells has been shown to promote fibrotic processes resembling scar formation in advanced AMD (Radeke et al., 2015). Together, these findings suggest that DNMT upregulation in neovascular AMD may be associated to pro-angiogenic and pro-fibrotic epigenetic reprogramming.

After characterizing DNMT expression, this study sought to correlate these findings with structural alterations assessed by SD-OCT. In intermediate AMD, significant positive correlations were observed between DNMT1 expression and central GCL thickness ($r = 0.561$; $p = 0.045$) and central GCL+IPL thickness ($r = 0.619$; $p = 0.032$). Particularly in patients with good BCVA, higher DNMT1 levels appeared associated with preserved structural integrity, though longitudinal studies are needed to clarify this relationship and the balance with de novo DNMTs. These associations support a potential role for DNMT1 as a marker of structural resilience in intermediate disease stages. Conversely, higher DNMT3A/3B expression correlated negatively with central RNFL thickness ($r = -0.658$; $p = 0.020$) and BCVA ($r = -0.625$; $p = 0.030$), suggesting a potential detrimental effect on both structural and functional integrity in intermediate stages.

In neovascular AMD, the opposite trend was observed: DNMT1 expression correlated negatively with central GCL thickness ($r = -0.568$; $p = 0.044$), central GCL+IPL thickness ($r = -0.725$; $p = 0.008$), and outer GCL+IPL thickness ($r = -0.568$; $p = 0.047$). Compared with intermediate AMD, this suggests that above a certain threshold, increased DNMT expression may reflect pathophysiological processes that directly or indirectly contribute to neural layer degeneration. This stage-dependent inversion reinforces the concept of DNMTs as dynamic biomarkers reflecting divergent biological pathways rather than uniform disease severity.

It is important to note that, despite structural and functional characterization in early and atrophic AMD, no

formação de cicatriz nos estádios avançados da DMI (Radeke et al., 2015). Em conjunto, estes dados sugerem que a sobre-expressão das DNMTs na DMI neovascular poderá estar associada a um processo de reprogramação epigenética pró-angiogénica e pró-fibrótica.

Após a caracterização da expressão das DNMTs, o presente estudo procurou correlacionar estes achados com as alterações estruturais avaliadas por SD-OCT. Na DMI intermédia, foram observadas correlações positivas estatisticamente significativas entre a expressão da DNMT1 e a espessura central da GCL ($r = 0,561$; $p = 0,045$), bem como com a espessura central combinada da GCL+IPL ($r = 0,619$; $p = 0,032$). Em particular, nos doentes com melhor acuidade visual corrigida, níveis mais elevados de DNMT1 pareceram associar-se à preservação da integridade estrutural, embora sejam necessários estudos longitudinais para clarificar esta relação e o seu equilíbrio com as DNMTs de novo. Estas associações sustentam um potencial papel da DNMT1 como marcador de resiliência estrutural nos estádios intermédios da doença. Em contraste, níveis mais elevados de expressão das DNMT3A e DNMT3B correlacionaram-se negativamente com a espessura central da RNFL ($r = -0,658$; $p = 0,020$) e com a acuidade visual corrigida ($r = -0,625$; $p = 0,030$), sugerindo um possível efeito deletério, simultaneamente estrutural e funcional, nos estádios intermédios da DMI.

Na DMI neovascular, foi observado um padrão oposto, com a expressão da DNMT1 a apresentar correlações negativas com a espessura central da GCL ($r = -0,568$; $p = 0,044$), com a espessura central da GCL+IPL ($r = -0,725$; $p = 0,008$) e com a espessura da GCL+IPL no anel externo ($r = -0,568$; $p = 0,047$). Em comparação com a DMI intermédia, estes resultados sugerem que, acima de determinado limiar, o aumento da expressão das DNMTs poderá refletir processos fisiopatológicos que contribuem direta ou indiretamente para a degenerescência das camadas neurais. Esta inversão dependente do estágio reforça o conceito das DNMTs como biomarcadores dinâmicos, refletindo vias biológicas divergentes, mais do que uma progressão linear da gravidade da doença.

Importa salientar que, apesar da caracterização estrutural e funcional realizada nos grupos de DMI inicial e atrófica, não foram identificadas correlações estatisticamente significativas com a expressão das DNMTs. Ainda assim, os perfis de correlação distintos observados sugerem que os fenótipos avançados (atrófico e neovascular) poderão ser impulsionados por mecanismos patológicos divergentes. Do ponto de vista clínico, estes achados indicam que os perfis de expressão das DNMTs poderão ter utilidade como biomarcadores epigenéticos específicos por estágio, contribuindo para uma melhor compreensão da progressão da doença e para o desenvolvimento de futuras estratégias terapêuticas.

Este estudo apresenta ainda limitações adicionais. Uma limitação relevante deste estudo prende-se com o tamanho reduzido da amostra, particularmente nos grupos de DMI inicial e atrófica, o que poderá ter condicionado a deteção de associações consistentes e limitado o poder estatístico. A distribuição assimétrica dos subgrupos, embora inevitável no contexto clínico real, restringe igualmente a interpretação de associações específicas por estágio e a generalização dos resultados. Estudos futuros com coortes mais alargadas

significativas correlações com DNMT expression were identified. Nevertheless, the distinct correlation profiles suggest that advanced phenotypes (atrophic and neovascular) may be driven by divergent pathological mechanisms. From a clinical perspective, these findings suggest that DNMT expression profiles may have potential utility as stage-specific epigenetic biomarkers, contributing to a better understanding of disease progression and informing future therapeutic strategies.

A relevant limitation of this study relates to the relatively small sample size, particularly in the early and atrophic AMD groups, which may have reduced statistical power and limited the detection of consistent associations. The uneven distribution of subgroups, although reflective of real-world clinical settings, further constrains stage-specific interpretations and the generalizability of the findings. Future studies with larger and more balanced cohorts will be essential to minimize bias and strengthen the robustness of the conclusions. In addition, the cross-sectional design precludes causal inference and limits the assessment of temporal relationships between epigenetic alterations and structural retinal changes during AMD progression. Potential clinical and biological confounders, including heterogeneity in treatment exposure, particularly anti-VEGF therapy, and the presence of systemic comorbidities, could not be fully controlled and may have influenced DNMT expression profiles.

Another methodological limitation concerns the use of peripheral blood samples for molecular analyses, which may not fully reflect the local retinal or RPE microenvironment. Nevertheless, previous studies have reported concordant systemic epigenetic signatures in AMD, supporting the relevance of this approach.

Finally, although semi-automated segmentation of SD-OCT-derived structural parameters reduces variability compared with fully manual methods, a residual degree of observer-dependent subjectivity remains. Future research should incorporate intra- and inter-observer reproducibility analyses, as well as longitudinal study designs, to further enhance methodological validity and clinical applicability.

5. CONCLUSION

This study highlights AMD's multifactorial complexity and epigenetics' potential contribution to its progression (Camacho et al., 2025). The results suggest that advanced phenotypes (atrophic and neovascular) may arise from distinct pathological pathways, reflected in divergent DNMT expression patterns and their correlations with structural retinal and choroidal parameters. Downregulation of *DNMT1*, *DNMT3A*, and *DNMT3B* in atrophic AMD points to mechanisms related to oxidative stress and retinal pigment epithelium dysfunction, whereas the upregulation observed in neovascular AMD may be linked to inflammatory and angiogenic processes.

The correlations identified between DNMTs and structural measures obtained by SD-OCT reinforce the importance of integrating epigenetic and imaging biomarkers in AMD characterization. Such an integrative approach may allow for more accurate patient stratification and the identification of potential therapeutic targets. Despite limitations related to sample size and cross-sectional design, this work provides

e equilibradas serão essenciais para reduzir potenciais enviesamentos e reforçar a robustez das conclusões.

Adicionalmente, o desenho transversal do estudo impede inferências causais e limita a avaliação das relações temporais entre alterações epigenéticas e modificações estruturais da retina ao longo da progressão da DMI. A presença de potenciais fatores de confundimento clínicos e biológicos, nomeadamente a heterogeneidade na exposição terapêutica (particularmente a terapêutica anti-VEGF) e a coexistência de comorbilidades sistémicas, não pôde ser totalmente controlada e poderá ter influenciado os perfis de expressão das DNMTs.

Outra limitação metodológica reside no facto de as análises moleculares terem sido realizadas em amostras de sangue periférico, que podem não refletir integralmente o microambiente local da retina ou do EPR. No entanto, estudos prévios têm demonstrado a existência de assinaturas epigenéticas sistémicas concordantes na DMI, sustentando a relevância desta abordagem.

Por fim, embora a segmentação semi-automática dos parâmetros estruturais obtidos por SD-OCT reduza a variabilidade face a métodos totalmente manuais, subsiste um grau residual de subjetividade dependente do observador. Investigações futuras deverão integrar análises de reprodutibilidade intra e interobservador, bem como desenhos longitudinais, de modo a reforçar a validade metodológica e a aplicabilidade clínica dos resultados.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo evidencia a complexidade multifatorial DMI e o potencial contributo dos mecanismos epigenéticos para a sua progressão (Camacho et al., 2025). Os resultados sugerem que os fenótipos avançados (atrófico e neovascular) poderão resultar de vias patológicas distintas, refletidas em padrões divergentes de expressão das DNMTs e nas suas correlações com parâmetros estruturais da retina e da coróide. A diminuição da expressão da *DNMT1*, *DNMT3A* e *DNMT3B* na DMI atrófica aponta para mecanismos associados ao stress oxidativo e à disfunção do EPR enquanto a sobre-expressão observada na DMI neovascular poderá estar relacionada com processos inflamatórios e angiogénicos.

As correlações identificadas entre as DNMTs e as métricas estruturais obtidas por SD-OCT reforçam a relevância da integração de biomarcadores epigenéticos e imagiológicos na caracterização da DMI. Esta abordagem integrativa poderá permitir uma estratificação mais precisa dos doentes e a identificação de potenciais alvos terapêuticos. Apesar das limitações inerentes ao tamanho da amostra e ao desenho transversal, este trabalho fornece contributos relevantes para a investigação futura no domínio da epigenética e dos biomarcadores imagiológicos da retina. Estudos longitudinais, com coortes mais alargadas e equilibradas, serão essenciais para validar estes resultados e aprofundar o conhecimento do envolvimento epigenético nos diferentes estádios da doença.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não existir conflitos de interesse que possam ter influenciado o trabalho apresentado.

relevant perspectives for future research in epigenetics and retinal imaging biomarkers. Longitudinal studies, with larger and more balanced cohorts, will be essential to validate these findings and to deepen the understanding of epigenetic involvement across different disease stages.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest that could have influenced the work reported in this article.

ACKNOWLEDGEMENTS

This project was partially supported by the IDI&CA grant IPL/IDI&CA2024/INSYDE_AMD_ESTeSL, by the Health & Technology Research Center (H&TRC), Lisbon School of Health Technology (ESTeSL), Polytechnic Institute of Lisbon, and by national funding from FCT/MCTES through projects UIDP/05608/2020 (<https://doi.org/10.54499/UIDP/05608/2020>).

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Conceptualisation, PC, ER, BP, and MB; methodology, PC, AA, LL, DN, CG, ER, CS, and MB; software, AA, LL, DN, PC, and BP; validation, PC, ER, BP, CG, CS, and MB; formal analysis, PC, ER, BP, CG, CS, and MB; research, PC, BP, AA, LL, DN, CG, ER, CS, and MB; writing – preparation of the original draft, PC, ER, BP, CG, CS, and MB; research, PC, BP, AA, LL, DN, CG, ER, CS, and MB; writing - revision and editing, PC, ER, BP, CG, CS and MB; research, PC, BP, AA, LL, DN, CG, ER, CS and MB; supervision, PC, ER, CG, BP and MB; project coordination, PC; obtaining funding, PC. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

AGRADECIMENTOS

Este projeto foi parcialmente financiado pelo IDI&CA grant IPL/IDI&CA2024/INSYDE_AMD_ESTeSL, pelo Health & Technology Research Center (H&TRC), Lisbon School of Health Technology (ESTeSL), Polytechnic Institute of Lisbon, e por financiamento nacional da FCT/MCTES através do projeto UIDP/05608/2020 (<https://doi.org/10.54499/UIDP/05608/2020>).

CONTRIBUIÇÕES AUTORAIS

Conceptualização, PC, ER, BP, e MB; metodologia, PC, AA, LL, DN, CG, ER, CS e MB; software, AA, LL, DN, PC e BP; validação, PC, ER, BP, CG, CS e MB; análise formal, PC, ER, BP, CG, CS e MB; investigação, PC, BP, AA, LL, DN, CG, ER, CS e MB; redação - preparação do draft original, PC, ER, BP, CG, CS e MB; investigação, PC, BP, AA, LL, DN, CG, ER, CS e MB; redação - revisão e edição, PC, ER, BP, CG, CS e MB; investigação, PC, BP, AA, LL, DN, CG, ER, CS e MB; supervisão, PC, ER, CG, BP e MB; coordenação do projeto, PC; obtenção de financiamento, PC. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- Baird, P.N., Wei, L. Age-related macular degeneration and DNA methylation. *Epigenomics*. 2013 <https://doi.org/10.2217/epi.13.19>
- Cachulo, M. da L., Laíns, I., Lobo, C., Figueira, J., Ribeiro, L., Marques, J.P., Costa, J., Vieira, A., Rodrigues, J., Alves, D., Nunes, S., Costa, M., Rodrigues, V., Cunha-Vaz, J., Delcourt, C., Silva, R.. Age-related macular degeneration in Portugal: Prevalence and risk factors in a coastal and an inland town. The Coimbra Eye Study - Report 2. *Acta Ophthalmol.* 1–12, 2016. <https://doi.org/10.1111/aos.12950>
- Camacho, P., Dutra-Medeiros, M., Cabral, D., Silva, R. Outer Retina and Choroidal Thickness in Intermediate Age-Related Macular Degeneration: Reticular Pseudodrusen Findings. *Ophthalmic Res.* 59, 212–220, 2018. <https://doi.org/10.1159/000484349>
- Camacho, P., Dutra-Medeiros, M., Páris, L. Ganglion Cell Complex in Early and Intermediate Age-Related Macular Degeneration: Evidence by SD-OCT Manual Segmentation. *Ophthalmologica* 238, 31–43, 2017. <https://doi.org/10.1159/000468965>
- Camacho, P., Ribeiro, E., Pereira, B., Nascimento, J., Caldeira Rosa, P., Henriques, J., Barrão, S., Sadio, S., Quendera, B., Delgadinho, M., Ginete, C., Silva, C., Brito, M. DNA Methyltransferase Expression (DNMT1, DNMT3a, and DNMT3b) as a Potential Biomarker in Age-Related Macular Degeneration. *J. Clin. Med.* 14, 559, 2025. <https://doi.org/10.3390/jcm14020559>
- Corradetti, G., Corvi, F., Nittala, M.G., Nassisi, M., Alagorie, A.R., Scharf, J., Lee, M.Y., Sadda, S.R., Sarraf, D. Natural history of incomplete retinal pigment epithelial and outer retinal atrophy in age-related macular degeneration. *Canadian Journal of Ophthalmology* 56, 325–334, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cjoo.2021.01.005>
- Costa, I., Andrade, H., Pereira, B., Camacho, P. Neurodegeneration and choroidal vascular features on OCT in the progression to advanced age-related macular degeneration. *Int. J. Ophthalmol.* 18, 103–110, 2025. <https://doi.org/10.18240/ijo.2025.01.12>
- Farinha, C., Silva, A.L., Coimbra, R., Nunes, S., Cachulo, M.L., Marques, J.P., Pires, I., Cunha-Vaz, J., Silva, R. Retinal layer thicknesses and neurodegeneration in early age-related macular degeneration: insights from the Coimbra Eye Study. *Graefes' Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 259, 2545–2557, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00417-021-05140-0>
- Flaxel, C.J., Adelman, R.A., Bailey, S.T., Fawzi, A., Lim, J.I., Vemulakonda, G.A., Ying, G. shuang. Age-Related Macular Degeneration Preferred Practice Pattern®. *Ophthalmology* 127, P1–P65, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2019.09.024>
- Fleckenstein, M., Schmitz-Valckenberg, S., Chakravarthy, U. Age-Related Macular Degeneration: A Review. *JAMA* 331, 147–157, 2024. <https://doi.org/10.1001/jama.2023.26074>
- Fritsche, L.G., Fariss, R.N., Stambolian, D., Abecasis, G.R., Curcio, C.A., Swaroop, A. Age-Related Macular Degeneration: Genetics and Biology Coming Together. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 15, 151–171, 2014. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-090413-025610>
- Govetto, A., Sarraf, D., Figueroa, M.S., Pierro, L., Ippolito, M., Risser, G., Bandello, F., Hubschman, J.P. Choroidal thickness in non-neovascular versus neovascular age-related macular degeneration: A fellow eye comparative study. *British Journal of Ophthalmology* 101, 764–769, 2017. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2016-309281>
- Koh, L.H.L., Agrawal, R., Khandelwal, N., Sai Charan, L., Chhablani, J. Choroidal vascular changes in age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol.* 95, e597–e601, 2017. <https://doi.org/10.1111/AOS.13399>
- Kumar-Singh, R. The role of complement membrane attack complex in dry and wet AMD - From hypothesis to clinical trials. *Exp. Eye Res.* 184, 266–277, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.05.006>
- Li, X., Wang, J., Wang, L., Feng, G., Li, G., Yu, M., Li, Y., Liu, C., Yuan, X., Zang, G., Li, Z., Zhao, L., Ouyang, H., Quan, Q., Wang, G., Zhang, C., Li, O., Xiang, J., Zhu, J.-K., Li, W., Zhou, Q., Zhang, K. Impaired lipid metabolism by age-dependent DNA methylation alterations accelerates aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2020. <https://doi.org/10.1073/pnas.1919403117>
- Manjunath, V., Goren, J., Fujimoto, J.G., Duker, J.S. Analysis of Choroidal Thickness in Age-Related Macular Degeneration Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Am. J. Ophthalmol.* 152, 663, 2011. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2011.03.008>
- Maugeri, A., Barchitta, M., Mazzone, M.G., Giuliano, F., Basile, G., Agodi, A. Resveratrol modulates SIRT1 and DNMT functions and restores LINE-1

- methylation levels in ARPE-19 cells under oxidative stress and inflammation. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1–14, 2018. <https://doi.org/10.3390/ijms19072118>
- More, P., Almuhtaseb, H., Smith, D., Fraser, S., Lotery, A.J. Socio-economic status and outcomes for patients with age-related macular degeneration. *Eye* 33, 1224–1231, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41433-019-0393-3>
- Nashine, S., Kenney, M.C. Further understanding of epigenetic dysfunction of the retinal pigment epithelium in AMD. *Expert Rev. Ophthalmol.* 15, 221–231, 2020. <https://doi.org/10.1080/17469899.2020.1767597>
- Nguyen-Ba-Charvet, K.T., Rebsam, A. Neurogenesis and Specification of Retinal Ganglion Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 451, 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21020451>
- Nieves-Moreno, M., Martínez-de-la-Casa, J.M., Morales-Fernández, L., Sánchez-Jean, R., Sáenz-Francés, F., García-Feijoó, J. Impacts of age and sex on retinal layer thicknesses measured by spectral domain optical coherence tomography with Spectralis. *PLoS One* 13, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194169>
- Peng, C.H., Cherng, J.Y., Chiou, G.Y., Chen, Y.C., Chien, C.H., Kao, C.L., Chang, Y.L., Chien, Y., Chen, L.K., Liu, J. hon, Chen, S.J., Chiou, S.H. Delivery of Oct4 and SirT1 with cationic polyurethanes-short branch PEI to aged retinal pigment epithelium. *Biomaterials* 32, 9077–9088, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.08.008>
- Radeke, M.J., Radeke, C.M., Shih, Y.H., Hu, J., Bok, D., Johnson, L. V., Coffey, P.J. Restoration of mesenchymal retinal pigmented epithelial cells by TGF β pathway inhibitors: Implications for age-related macular degeneration. *Genome Med.* 7, 1–19, 2015. <https://doi.org/10.1186/s13073-015-0183-x>
- Sadeghi, E., Valsecchi, N., Rahmanipour, E., Ejlalidiz, M., Hasan, N., Vupparaboina, K.K., Ibrahim, M.N., Rasheed, M.A., Baek, J., Iannetta, D., Chhablani, J. Choroidal biomarkers in age-related macular degeneration. *Surv. Ophthalmol.* 70, 167–183, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2024.10.004>
- Salehi, M.A., Mohammadi, S., Gouravani, M., Rezagholi, F., Arevalo, J.F. Retinal and choroidal changes in AMD: A systematic review and meta-analysis of spectral-domain optical coherence tomography studies. *Surv. Ophthalmol.* 68, 54–66, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2022.07.006>
- Schmidt-Erfurth, U., Mai, J., Reiter, G.S., Riedl, S., Vogl, W.-D., Sadeghipour, A., McKeown, A., Foos, E., Scheibler, L., Bogunovic, H. Disease activity and therapeutic response to pegcetacoplan for geographic atrophy identified by deep learning-based analysis of OCT. *Ophthalmology* 1–13, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2024.08.017>
- Sitnilska, V., Enders, P., Cursiefen, C., Fauser, S., Altay, L. Association of imaging biomarkers and local activation of complement in aqueous humor of patients with early forms of age-related macular degeneration. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 259, 623–632, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00417-020-04910-6>
- Wei, L., Liu, B., Tuo, J., Shen, D., Chen, P., Li, Z., Liu, X., Ni, J., Dagur, P., Sen, H.N., Jawad, S., Ling, D., Park, S., Chakrabarty, S., Meyerle, C., Agron, E., Ferris, F.L., Chew, E.Y., McCoy, J.P., Blum, E., Francis, P.J., Klein, M.L., Guymer, R.H., Baird, P.N., Chan, C., Nussenblatt, R.B. Hypomethylation of the IL17RC Promoter Associates with Age-Related Macular Degeneration. *Cell Rep.* 2, 1151–1158, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.10.013>
- Wong, W.L., Su, X., Li, X., Cheung, C.M.G., Klein, R., Cheng, C.Y., Wong, T.Y. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob. Health* 2, e106–e116, 2014. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(13\)70145-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(13)70145-1)
- Wood, A., Binns, A., Margrain, T., Drexler, W., Povaay, B., Esmaeelpour, M., Sheen, N. Retinal and choroidal thickness in early age-related macular degeneration. *Am. J. Ophthalmol.* 152, 1030–1038.e2, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2011.05.021>
- Wu, J., Liu, L. lin, Cao, M., Hu, A., Hu, D., Luo, Y., Wang, H., Zhong, J. ning. DNA methylation plays important roles in retinal development and diseases. *Exp. Eye Res.* 211, 108733, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2021.108733>
- Wu, X., Yang, X., Dai, X., Chen, X., Shen, M., Dai, J., Yuan, F., Wang, L., Yuan, Y., Feng, Y. 5-Aza-2'-Deoxycytidine Ameliorates Choroidal Neovascularization by Inhibiting the Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 65, 23, 2024. <https://doi.org/10.1167/iovs.65.2.23>
- Zhang, S., Ren, J., Chai, R., Yuan, S., Hao, Y. Global burden of low vision and blindness due to age-related macular degeneration from 1990 to 2021 and projections for 2050. *BMC Public Health* 24, 2024. <https://doi.org/10.1186/s12889-024-21047-x>
- Zhao, M., Alonso-caneiro, D., Lee, R., Cheong, A.M.Y., Yu, W., Wong, H., Lam, A.K.C. Comparison of Choroidal Thickness Measurements Using Semiautomated and Manual Segmentation Methods 97, 121–127, 2020. <https://doi.org/10.1097/OPX.0000000000001473>

Quantificação de células totais no líquido cefalorraquidiano: Poderá o Alinity hq ser uma alternativa eficaz?

Total cell quantification in Cerebrospinal Fluid: Can Alinity hq be an effective alternative?

Frederico Bragança^{1,2}, Rui Barreira¹, Edna Ribeiro^{3*} 

¹Instituto Português de Oncologia de Lisboa Francisco Gentil, R. Prof. Lima Basto 1099-023, Lisboa, Portugal.

²Escola Superior de Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa, Av. D. João II, lote 4.69.01, Parque das Nações, 1990-096 Lisboa, Portugal.

³H&TRC- Health & Technology Research Center, ESTeSL- Escola Superior de Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa, Av. D. João II, lote 4.69.01, Parque das Nações, 1990-096 Lisboa, Portugal.

*Autor correspondente/Corresponding author: edna.ribeiro@estesl.ipl.pt

Recebido/Received: 25-03-2026; Revisto/Revised: 04-05-2026; Aceite/Accepted: 08-05-2026

Resumo

Introdução: A quantificação celular no líquido cefalorraquidiano (LCR) é um método crítico para o diagnóstico de hemorragia subaracnoidea, patologias neuroinflamatórias e neoplásicas. Apesar dos inúmeros avanços tecnológicos em analisadores hematológicos automáticos, a contagem de células do LCR ainda é um procedimento manual em diversos laboratórios de patologia clínica. Como consequência tem-se um procedimento mais moroso e laborioso, que exige profissionais experientes e não obstante apresenta alta variabilidade intra e interoperador. **Métodos:** Para avaliar a possibilidade de automatizar a contagem de células do LCR, foi realizado um estudo comparativo-descritivo para validar e implementar o método. Foi realizada uma comparação entre o método manual de contagem de células do LCR (método de referência) e o analisador automático Alinity hq em 222 amostras do Instituto Português de Oncologia de Lisboa Francisco Gentil. Os dados foram analisados estatisticamente pelo método de Bland-Altman para determinar os limites de concordância entre ambos os métodos e a capacidade do Alinity hq (Abbott Laboratories, Diagnostics Division, Hematology, 2012, Santa Clara, CA, EUA) para discriminar amostras patológicas (≥ 5 leucócitos/ μL) de amostras normais (< 5 leucócitos/ μL). **Resultados:** Os leucócitos apresentaram uma diferença média entre a contagem manual e a contagem automática de $-2,0$ leucócitos/ μL e uma concordância de $[-30,18$ a $26,18$ leucócitos/ μL]. Para a contagem de eritrócitos, obtivemos uma diferença média de $-106,36$ eritrócitos/ μL e uma concordância de $[-934,64$ a $721,96$ eritrócitos/ μL]. **Conclusão:** O baixo conteúdo celular do LCR e os valores de referência clinicamente aceites impostos para o método são um obstáculo à implementação da automatização na prática clínica.

Palavras-chave: Líquido cefalorraquidiano; Hemocitómetro; Automação; Contagem diferencial de células.

Abstract

Introduction: Cell quantification in the cerebrospinal fluid (CSF) is a critical method for the diagnosis of subarachnoid bleeding, neuro-inflammatory and neoplastic pathologies. Despite the numerous technological advances in automatic hematology analyzers, CSF cell count is still a manual microscopy procedure in several clinical pathology laboratories and therefore a technique not only time-consuming but also labour-intensive, requiring experienced laboratory staff and with a high intra- and inter-operator variability. **Methods:** To assess the possibility of automating the CSF cell count, a comparative-descriptive study was conducted to validate and implement the method. A comparison between the manual CSF cell counts method (reference method) and the Alinity hq automatic analyzer was performed on 222 samples from the Instituto Português de Oncologia de Lisboa Francisco Gentil. Data was analyzed statistically by Bland-Altman to determine the limits of agreement between both methods and the ability of Alinity hq (Abbott Laboratories, Diagnostics Division, Hematology, Santa Clara, CA, USA) to discriminate pathological samples (≥ 5 leucocytes/ μL) from normal samples (< 5 leucocytes/ μL). **Results:** Leucocytes demonstrated a mean difference between manual count and automatic count of $-2,0$ leucocytes/ μL and an agreement of $[-30,18$ to $26,18$ leucocytes/ μL]. For erythrocyte counts, we obtained a mean difference of $-106,36$ erythrocytes/ μL and an agreement of $[-934,64$ to $721,96$ erythrocytes/ μL]. **Conclusion:** The CSF's low cellular content and the clinically accepted reference values imposed for the method are a hindrance to implementing automation in clinical practice.

Keywords: Cerebrospinal fluid; Hemocytometer; Automation; Cell differential count



1. INTRODUÇÃO

O líquido cefalorraquidiano (LCR) tem sido foco de interesse de vários grupos de investigação, nomeadamente daqueles que realizam diagnóstico utilizando técnicas moleculares, e os desenvolvimentos alcançados trouxeram novas perspectivas relativamente ao diagnóstico de inúmeras patologias, tratamentos e até novos campos de investigação (Ferdinand-Otto *et al.*, 2022). A automatização nos laboratórios de patologia clínica tem impulsionado avanços tecnológicos, principalmente no que diz respeito à padronização de procedimentos, rapidez na obtenção de resultados, segurança dos profissionais e redução de erros (Claudia-Archetti *et al.*, 2017). Embora a contagem celular no LCR seja um procedimento fundamental num serviço de patologia clínica, particularmente na área da hematologia, quando existem suspeitas de doenças neuroinflamatórias, hemorragias subaracnoideias e doenças hemato-oncológicas (Carl-Kjeldsberg *et al.*, 1993), o procedimento continua a ser realizado manualmente por microscopia e requer a disponibilidade total de profissionais altamente qualificados (Manfred-Wick *et al.*, 2021). Até à data, a metodologia de referência para este procedimento é a contagem manual num hemocítmetro (Pauline-Herroelen *et al.*, 2022) (e.g., com uma câmara de contagem de Fuchs-Rosenthal ou Nageotte), seguida de contagem diferencial por microscopia (Manfred-Wick *et al.*, 2021). A implementação de contadores celulares automáticos para LCR apresenta vários desafios, sobretudo relacionados com a amostra, incluindo o baixo conteúdo celular, bem como a identificação de células anormais/não hematopoiéticas que possam estar presentes nas amostras (Manfred-Wick *et al.*, 2021). Apesar de alguns equipamentos possuírem protocolos específicos para a contagem de células nucleadas totais em fluidos biológicos, a sua baixa sensibilidade analítica traduz-se numa limitação tecnológica, com implicações na validade prática do método. Além disso, se os contadores celulares não forem capazes de diferenciar valores normais de valores patológicos, a sua utilização permanece questionável (Pauline-Herroelen *et al.*, 2022; Linda-Sandhaus *et al.*, 2017).

Embora alguns laboratórios já tenham implementado a contagem celular do LCR utilizando contadores automáticos (G.-Bourner *et al.*, 2014), vários estudos sustentam a necessidade de validação e verificação internas para assegurar especificações de desempenho que podem não estar contempladas nos dados do fabricante (G.-Bourner *et al.*, 2014).

Neste estudo, tivemos como objetivo comparar a contagem celular do LCR tradicionalmente realizada por microscopia manual já implementada no nosso laboratório, com o analisador hematológico Alinity hq, de forma a avaliar a sua eventual implementação para amostras de LCR. Procurámos também compreender que tipo de informação adicional, fornecida pelo Alinity hq (e.g., *flags* e citogramas), poderia ser útil para o subsequente exame citomorfológico.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. AMOSTRAS

As amostras (N=222) obtidas para fins de diagnóstico de rotina por punção lombar foram recolhidas em tubos de centrifugação não estéreis com fundo cónico, tampa de

1. INTRODUCTION

Cerebrospinal fluid (CSF) has been a focus of interest of several research groups, namely those who make diagnoses using molecular techniques, and the developments achieved have brought new perspectives about the diagnosis of numerous pathologies, treatments, and even new fields of research (Ferdinand-Otto *et al.*, 2022). Automation in clinical pathology laboratories has endorsed technological advances, mainly concerning the standardization of procedures, speed of results, safety of professionals, and reduction of errors (Claudia-Archetti *et al.*, 2017). Although CSF cell count is a fundamental procedure in a clinical pathology service, particularly in the area of hematology, when neuro-inflammatory diseases, subarachnoid hemorrhages, and hemato-oncological diseases are suspected (Carl-Kjeldsberg *et al.*, 1993), the procedure is still carried out by manual microscopy and requires the full availability of highly qualified professionals (Manfred-Wick *et al.*, 2021). To date, the reference methodology for the procedure is manual counting in a hemocytometer (Pauline-Herroelen *et al.*, 2022) (e.g., with a Fuchs-Rosenthal or Nageotte counting chamber), followed by differential counting by microscopy (Manfred-Wick *et al.*, 2021). The implementation of automatic cell counters for CSF has several challenges, mostly sample-related, including low cellular content, as well as the identification of abnormal/non-hematopoietic cells that might be present in the samples (Manfred-Wick *et al.*, 2021). Even though some equipment has specific protocols for counting total nucleated cells in biological fluids, their low analytical sensitivity translates into a limitation of the technology, which has implications for the practical validity of the method. Furthermore, if cell counters are not capable of differentiating normal from pathological values, then their use remains questionable (Pauline-Herroelen *et al.*, 2022; Linda-Sandhaus *et al.*, 2017).

Although some laboratories have already implemented CSF cell counting using automatic counters (G.-Bourner *et al.*, 2014), several studies support the need for internal validation and verification to ensure performance specifications that may be absent from the manufacturer's data (G.-Bourner *et al.*, 2014).

In this study, we aimed to compare the CSF cell counting traditionally performed by manual microscopy already in place in our laboratory, and Alinity hq haematology analyzer, to assess its eventual implementation for CSF samples. We have also tried to understand what kind of further information, provided by the Alinity hq (e.g., *flags* and cytograms), could be useful for the subsequent cytomorphological examination.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. SAMPLES

Samples (N=222) obtained for routine diagnostic purposes by lumbar puncture were collected in non-sterile centrifuge tubes with a conical bottom, with a screw cap, without anticoagulants or additives, according to standard collection procedures. Samples originated from patients with haematologic malignancies, in which central nervous system (CNS) involvement is a serious complication and early detection and management of CNS involvement significantly influence the prognosis. The sampling method was non-probabilistic and performed by rational choice (Marie-Fortin, 2006). CSF

rosca, sem anticoagulantes ou aditivos, de acordo com os procedimentos padrão de colheita. As amostras tiveram origem em doentes com neoplasias hematológicas, nas quais o envolvimento do sistema nervoso central (SNC) constitui uma complicação grave e cuja detecção e abordagem precoces influenciam significativamente o prognóstico. O método de amostragem foi não probabilístico e realizado por escolha racional (Marie-Fortin, 2006). Foram selecionadas amostras de LCR com volume mínimo de 0,5 mL, considerado suficiente para contagem celular manual numa câmara de Nageotte, contagem celular automatizada no Alinity hq e, no caso de amostras patológicas, citocentrifugação com eventual concentração celular.

2.2. CONTAGEM CELULAR MANUAL

As amostras foram processadas assim que chegaram ao laboratório. Após receção, foi realizada uma observação macroscópica preliminar para caracterizar a amostra como límpida, turva, hemática ou xantocrômica.

A contagem celular manual na câmara de Nageotte foi realizada através de procedimentos padronizados. Resumidamente, após homogeneização da amostra, uma câmara de Nageotte limpa e seca foi humedecida com água destilada e coberta com uma lamela fina, sendo posteriormente preenchida adequadamente. Após sedimentação celular, foi efetuada análise microscópica utilizando uma objetiva de 40X, sendo contabilizados os leucócitos e/ou eritrócitos presentes na amostra. Para a contagem de leucócitos em amostras hemáticas, os eritrócitos foram lisados utilizando ácido acético (60,05 g/mol) misturado com a amostra em partes iguais. As amostras hemáticas consideradas resultantes de punção traumática foram reportadas ao clínico e classificadas como contaminadas. Para as amostras de doentes com leucemia linfoblástica aguda (LLA), os eritrócitos foram contados e, quando necessário, a amostra foi diluída com solução de cloreto de sódio a 0,9% (diluição 1:2).

2.3. CONTAGEM CELULAR NO CONTADOR AUTOMÁTICO ALINITY HQ

O Alinity hq é um analisador hematológico que não possui modo para fluidos biológicos e utiliza apenas princípios óticos para todas as medições. A tecnologia de contagem celular é a *Multi-Angle Polarized Scatter Separation* (MAPSS™), já previamente testada noutros sistemas de contagem celular (Yolien-Van der Beken et al., 2019). As contagens celulares no Alinity hq foram realizadas praticamente em simultâneo com as contagens manuais, em modo aberto (após homogeneização manual) e após leitura do background, de forma a assegurar que o contador cumpria os critérios de desempenho necessários e evitar contaminação da amostra. Considerando o baixo conteúdo celular do LCR, o limite para leitura de background foi de 1 leucócito/ μL .

2.4. EXAME CITOMORFOLÓGICO

Para as amostras cujos resultados de contagem manual ultrapassaram os valores de referência, foi realizada uma contagem diferencial celular após citocentrifugação da amostra

samples with a minimum volume of 0.5 mL were selected, as it was considered sufficient volume for manual cell counting in a Nageotte chamber, automated cell counting in Alinity hq, and, in case of pathological samples, cyto centrifugation with eventual cell concentration.

2.2. MANUAL CELL COUNT

Samples were processed as soon as they arrived at the laboratory. Upon receipt, a preliminary macroscopic observation was made to characterize the sample as clear, cloudy, hematic, or xanthochromic.

Manual cell counting in the Nageotte chamber was performed through standard procedures. Briefly, after homogenizing the sample, a clean and dry Nageotte chamber was moistened with distilled water and then covered with a thin coverslip and properly filled. After allowing the cells to settle, microscopic analysis was carried out using a 40X objective, and leukocytes and/or erythrocytes present in the sample were counted. For leukocyte count in hematic samples, erythrocytes were lysed using acetic acid (60.05g/mol) mixed with the sample in equal quantities. Hematic samples that were considered to be the result of a traumatic puncture were reported to the clinician and classified as contaminated. For the acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients' samples, erythrocytes were counted and, when necessary, the sample was diluted with a 0.9% sodium chloride solution (1:2 dilution).

2.3. CELL COUNTING IN ALINITY HQ AUTOMATIC CELL COUNTER

Alinity hq is a haematology analyzer that has no body fluids mode, and it only uses optical principles for all measurements. The cell counting technology is the *Multi-Angle Polarized Scatter Separation* (MAPSS™), which has already been tried and tested in other cell counting systems (Yolien-Van der Beken et al., 2019). Cell counts on the Alinity hq were conducted practically at the same time as the manual counts, with the open mode (after manual homogenization) and following a background reading, in order to ensure that the counter meets the necessary performance criteria and to avoid sample contamination. Considering the low cellular content of CSF, the limit for background reading was 1 leukocyte/ μL .

2.4. CYTOMORPHOLOGICAL EXAMINATION

For samples whose manual counting results were higher than the reference values, a cellular differential count was carried out after cyto centrifugation of the sample and subsequent staining with May-Grünwald-Giemsa (MGG). This procedure was done for the purpose of determining whether certain cell types (e.g. tumor cells) would have greater interference with the cell counts. For sample cyto centrifugation, 100 μL of previously homogenized CSF was pipetted into a cyto centrifugation funnel and centrifuged for 2 minutes at 20 RCF in the Shandon Cytospin II cyto centrifuge (Thermo Fisher Scientific™, Waltham, Massachusetts, USA). After drying, the slides were stained according to the established protocol at our laboratory: pure May-Grünwald for 7 minutes (fixing is done in this step), Giemsa diluted 1:10 in distilled water for 10 minutes, followed by washing for 3 minutes with running water and slide

e posterior coloração com May-Grünwald-Giemsa (MGG). Este procedimento foi efetuado com o objetivo de determinar se determinados tipos celulares (e.g. células tumorais) teriam maior interferência nas contagens celulares. Para a citocentrifugação das amostras, foram pipetados 100µL de LCR previamente homogeneizado para um funil de citocentrifugação e centrifugados durante 2 minutos a 20 RCF no citocentrífugo Shandon Cytospin II (Thermo Fisher Scientific™, Waltham, Massachusetts, USA). Após secagem, as lâminas foram coradas de acordo com o protocolo estabelecido no laboratório: May-Grünwald puro durante 7 minutos (a fixação ocorre nesta etapa), Giemsa diluído 1:10 em água destilada durante 10 minutos, seguido de lavagem durante 3 minutos com água corrente e secagem da lâmina. As amostras coradas foram posteriormente observadas ao microscópio ótico. As amostras com contagem leucocitária inferior a 50 células/µL foram concentradas por centrifugação a 350 RCF durante 10 minutos, de forma a aumentar a sensibilidade do método.

2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados através do software R versão 4.2.2. Copyright © 2022. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi inicialmente aplicado para determinar a normalidade da população. A análise de concordância foi realizada para leucócitos e eritrócitos utilizando o método de Bland-Altman, uma vez que permite determinar se existe concordância entre os resultados obtidos, sem comprometer a interpretação clínica dos resultados (J. Martin-Bland et al., 1986; C.-Briggs et al., 2014; Nurettin-Doğan, 2018). Foi elaborado um gráfico de dispersão em que o eixo X representa a média de duas medições $[(M1+M2)/2]$ e o eixo Y representa a diferença entre duas medições $(M1-M2)$. Foram quantificados o valor médio da diferença – \bar{d} (valor médio de $M1-M2$) – e os intervalos de confiança (intervalos de concordância). A média e o desvio-padrão foram calculados com o teste t. Para os leucócitos, de forma a determinar a capacidade do Alinity hq de diferenciar amostras normais (< 5 leucócitos/µL) de amostras patológicas (≥ 5 leucócitos/µL), foi também realizada uma curva ROC (Receiver Operating Characteristic). A AUC (área sob a curva), sensibilidade e especificidade foram obtidas através do índice de Youden.

2.6. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS E LEGAIS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde do IPOLFG, com a referência UIC/1540, e pela Comissão de Ética da ESTeSL, com a referência CE-ESTeSL-Nº. 104-2022.

3. RESULTADOS

No presente estudo, foram processadas 222 amostras de LCR obtidas no SPC do IPOLFG para comparar métodos de contagem celular no LCR. Relativamente à análise macroscópica realizada, as amostras foram caracterizadas como límpidas (91,4%), hemáticas (4,5%) e turvas (4,05%). A análise dos dados da contagem de leucócitos revelou que o número mínimo de leucócitos obtido em ambos os métodos foi de 0 leucócitos/µL, enquanto a contagem máxima obtida foi de 810 e 497 leucócitos/µL, respetivamente para o método manual e para o Alinity hq. Relativamente aos eritrócitos, também foi obtida uma contagem mínima de 0 eritrócitos/µL em ambos os métodos, enquanto a contagem

drying. Stained samples were then observed under an optical microscope. Samples with a leukocyte count lower than 50 cells/µL were concentrated by centrifugation at 350 RCF for 10 minutes in order to increase the method's sensitivity.

2.5. STATISTICAL ANALYSIS

The obtained data was analyzed through the R software version 4.2.2. Copyright © 2022. Kolmogorov-Smirnov test was applied first to determine the population's normality. Agreement analysis was performed for leucocytes and erythrocytes using the Bland-Altman method, as it allows for determining whether there is agreement between the results obtained, without compromising the clinical interpretation of the results (J. Martin-Bland et al., 1986; C.-Briggs et al., 2014; Nurettin-Doğan, 2018). A scatterplot was drawn in which the X-axis represents the average of two measurements $[(M1+M2)/2]$ and the Y-axis represents the difference between two measurements $(M1-M2)$. The average value of the difference – \bar{d} (average value of $M1-M2$) – and the confidence intervals (intervals of agreement) were quantified. Mean and standard deviation were calculated with the t-test. For leucocytes, to determine Alinity hq's ability to differentiate normal (< 5 leucocytes/µL) and pathologic (≥ 5 leucocytes/µL) CSF samples, ROC (Receiver Operating Characteristic) curve was also performed. AUC (area under the curve), sensitivity, and specificity were obtained by the Youden index.

2.6. ETHICAL AND LEGAL CONSIDERATIONS

This study was approved by the IPOLFG Health Ethics Committee, with reference UIC/1540, and by the ESTeSL Ethics Committee, with reference CE-ESTeSL-Nº. 104-2022.

3. RESULTS

In the present study, 222 CSF samples obtained from the IPOLFG SPC were processed to compare CSF cell counting methods. Regarding the performed macroscopic analysis, samples were characterized as clear (91.4%), hematic (4.5%), and turbid (4.05%). Leukocyte count data analysis revealed that the minimum number of leukocytes obtained in both methods was 0 leukocytes/µL, while the maximum count obtained was 810 and 497 leukocytes/µL, for the manual method and Alinity hq, respectively. Regarding erythrocytes, a minimum count of 0 erythrocytes/µL was also obtained in both methods, whereas a maximum of 2640 erythrocytes/µL was obtained with the manual counting and 34000 erythrocytes/µL with Alinity hq. Considering the manufacturer's specifications, although the lowest erythrocyte value is 0/µL, the following results are then available in 1000/µL increments. The distribution of leukocyte quantifications by manual and automatic methods was associated with cellular concentrations above and below the normal value (WBC counts $<5/\mu\text{L}$ and $\geq 5/\mu\text{L}$). The vast majority of the samples were considered within normal ranges (< 5 leukocytes/µL), with 87.4% and 84.7% normal samples, respectively, for the manual and the automated methods. The erythrocyte quantification distribution obtained by the two methods was associated with cellular concentrations above and below 1000 erythrocytes/µL, with a higher discrepancy between methods than for leukocytes. 92.8% of manual

máxima foi de 2640 eritrócitos/ μL no método manual e 34000 eritrócitos/ μL no Alinity hq. Considerando as especificações do fabricante, embora o valor mínimo de eritrócitos seja 0/ μL , os resultados seguintes encontram-se disponíveis em incrementos de 1000/ μL . A distribuição das quantificações leucocitárias pelos métodos manual e automático foi associada a concentrações celulares acima e abaixo do valor normal (contagens de leucócitos $<5/\mu\text{L}$ e $\geq 5/\mu\text{L}$). A grande maioria das amostras foi considerada dentro dos valores normais (< 5 leucócitos/ μL), com 87,4% e 84,7% de amostras normais, respectivamente, para o método manual e para o método automatizado. A distribuição da quantificação eritrocitária obtida pelos dois métodos foi associada a concentrações celulares acima e abaixo de 1000 eritrócitos/ μL , verificando-se uma discrepância maior entre métodos do que para os leucócitos. 92,8% das amostras manuais e 82% das amostras analisadas no Alinity hq apresentaram menos de 1000 eritrócitos/ μL .

3.1. QUANTIFICAÇÃO DE LEUCÓCITOS

Após obtenção dos resultados e antes da avaliação da concordância, foi executado o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar se o conjunto de dados apresentava distribuição normal, o que não se verificou.

Os resultados da quantificação de leucócitos demonstraram que as diferenças entre os dois métodos variam na mesma ordem de grandeza, independentemente da classificação do aspeto macroscópico da amostra.

Os dados foram analisados utilizando o método de Bland-Altman, e os resultados encontram-se representados na Figura 1. Os valores médios das contagens celulares realizadas pelos dois métodos estão representados no eixo X e, no eixo Y, estão representadas as diferenças entre os dois métodos. A diferença média calculada (\bar{d}) entre as medições foi de -2,00, e os limites superior e inferior de concordância ($\bar{d} \pm 1,96$ desvio padrão) foram de 26,18 e -30,18, respectivamente. O valor crítico identificado para o método (1,96 desvio-padrão - \bar{d}) foi de 28,18. A análise do gráfico de dispersão sugere que, para baixas contagens leucocitárias, as diferenças dos métodos em relação ao valor médio se encontram maioritariamente dentro dos limites de concordância; contudo, à medida que as contagens leucocitárias aumentam, observaram-se alguns resultados fora desses limites. No entanto, não foi possível estabelecer um padrão que sugerisse, por exemplo, que quanto maior o número celular, maiores seriam as diferenças entre os métodos.

A grande maioria das amostras analisadas (95,9%) encontrava-se abaixo do valor crítico de leucócitos (28.179 leucócitos/ μL) obtido pelo método de Bland-Altman.

Considerando a elevada relevância da contagem celular do LCR para o diagnóstico e monitorização de diversas patologias, nomeadamente neoplasias hematológicas, considerámos também crucial construir uma curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*), de forma a determinar a capacidade do Alinity hq de discriminar se a amostra é patológica (≥ 5 leucócitos/ μL) ou normal (<5 leucócitos/ μL). A Figura 2 representa a curva ROC do Alinity hq para leucócitos, considerando que o teste é negativo se os leucócitos forem $<5/\mu\text{L}$ e positivo se forem $\geq 5/\mu\text{L}$. A sensibilidade obtida através do índice de Youden foi de 0,665, a especificidade foi de 0,543 e a AUC foi de 0,5835.

samples and 82% of Alinity hq samples had less than 1000 erythrocytes/ μL .

3.1. LEUKOCYTE QUANTIFICATION

Upon obtaining the results and before assessing their agreement, Kolmogorov-Smirnov test was executed to test whether the dataset was normally distributed, which did not occur.

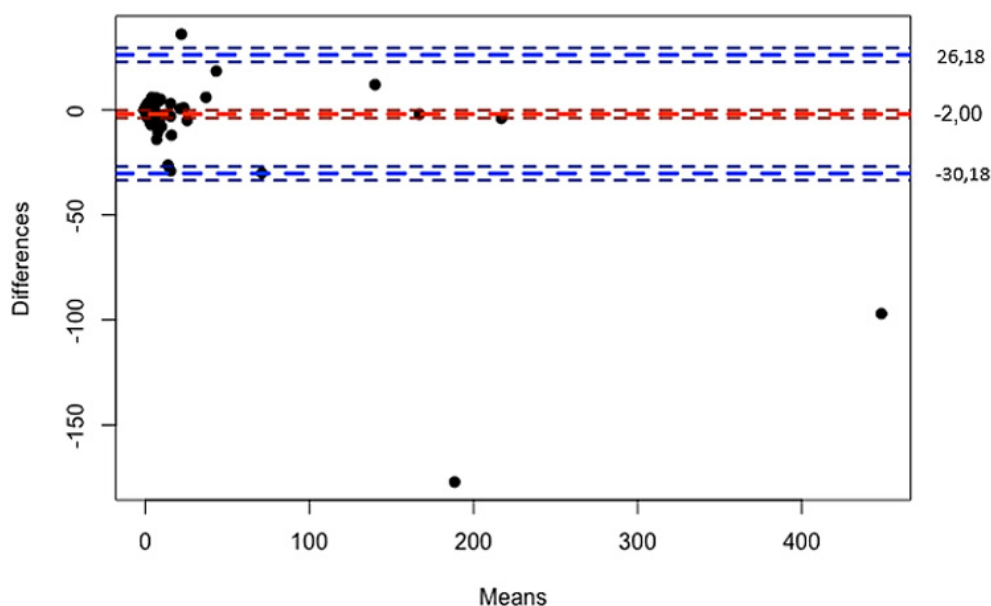
Leukocyte quantification results showed that the differences between the two methods vary in the same order of magnitude, regardless of the classification of the macroscopic appearance of the sample.

Data were analyzed using the Bland-Altman method, and results are shown in Figure 1. The mean values of the performed cell counts obtained by the two methods are represented on the X axis and in the Y axis are represented the differences between the two methods. Calculated mean difference (\bar{d}) between measurements was -2.00, and the upper and lower limits of agreement ($\bar{d} \pm 1.96$ standard deviation) are 26.18 and -30.18, respectively. The identified critical value of the method (1.96 standard deviation - \bar{d}) is 28.18. Scatterplot analysis suggests that, for low leukocyte counts, the differences of the methods in relation to the mean value are mostly within the limits of agreement, but as the leukocyte counts increase, we found a few results outside these limits. However, we were unable to establish a pattern that suggests, for example, that the higher the cellular numbers, the greater the differences between the methods.

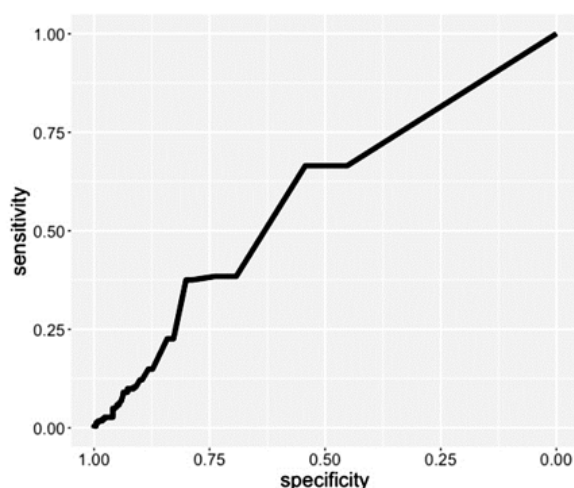
The vast majority of the analyzed samples (95.9%) were below the critical value of leukocytes (28.179 leukocytes/ μL) obtained by Bland-Altman analysis.

Considering the great relevance of CSF cell count for the diagnosis and monitoring of various pathologies, namely haematological malignancies, we also considered it crucial to create a Receiver Operating Characteristic (ROC) curve to determine the ability of the Alinity hq in discriminating whether the sample is pathologic (≥ 5 leukocytes/ μL) or normal (<5 leukocytes/ μL). Figure 2 represents Alinity hq ROC curve for leukocytes, considering that the test is negative if leukocytes $<5/\mu\text{L}$ and positive if $\geq 5/\mu\text{L}$. The sensitivity obtained by the Youden index was 0.665, the specificity was 0.543, and the AUC was 0.5835.

Bland-Altman Leucocytes



Figura/Figure 1: Gráfico de dispersão da análise de concordância leucocitária, utilizando o método de Bland-Altman. No eixo X encontra-se a média das contagens obtidas pelos dois métodos e, no eixo Y, a diferença entre a contagem manual e a contagem automática. A linha vermelha representa \bar{d} (média das diferenças das contagens) e as linhas azuis representam os limites de concordância (1,96 DP ou 95%)./Scatter plot of leukocyte concordance analysis, using the Bland-Altman method. On the X axis, is the average of the counts obtained by two methods, and on the Y axis, is the difference between manual counting and automatic counting. The red line represents \bar{d} (mean of count differences) and the blue lines represent the limits of agreement (1,96 SD or 95%).



Figura/Figure 2: Curva ROC dos leucócitos, apresentando no eixo X 1 – especificidade (taxa de falsos positivos) e no eixo Y a sensibilidade./ROC curve of leukocytes, showing on the X axis 1 – specificity (false positive rate) and the Y axis the sensitivity

3.2. QUANTIFICAÇÃO DE ERITRÓCITOS

Após obtenção dos resultados e antes da avaliação da concordância, foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar se o conjunto de dados apresentava distribuição normal, o que não se verificou.

A concordância dos resultados eritrocitários foi calculada utilizando apenas 208 amostras. Foi utilizado um menor número de amostras devido ao facto da morosidade da contagem manual (Pauline-Herroelen *et al.*, 2022; Vincenzo-Roccaforte *et al.*, 2018; Manfred-Wick *et al.*, 2021) e também porque a própria contagem de eritrócitos possui reduzido valor

3.2. ERYTHROCYTE QUANTIFICATION

Upon obtaining the results and before assessing the agreement, Kolmogorov-Smirnov test was performed to test whether our dataset was normally distributed, which it wasn't.

Erythrocyte results agreement was calculated using only 208 samples. Fewer samples were used due to manual counting taking a longer time (Pauline-Herroelen *et al.*, 2022; Vincenzo-Roccaforte *et al.*, 2018; Manfred-Wick *et al.*, 2021) and also the erythrocyte count itself has little diagnostic value (erythrocytes suggest blood contamination during collection – traumatic tap) (Carl-Kjeldsberg *et al.*, 1993), and thus the result is given as >

diagnóstico (os eritrócitos sugerem contaminação sanguínea durante a colheita – punção traumática)(Carl-Kjeldsberg et al., 1993), sendo por isso o resultado reportado como > 1000 eritrócitos/ μL , o que impossibilita a análise estatística, bem como a comparação entre métodos.

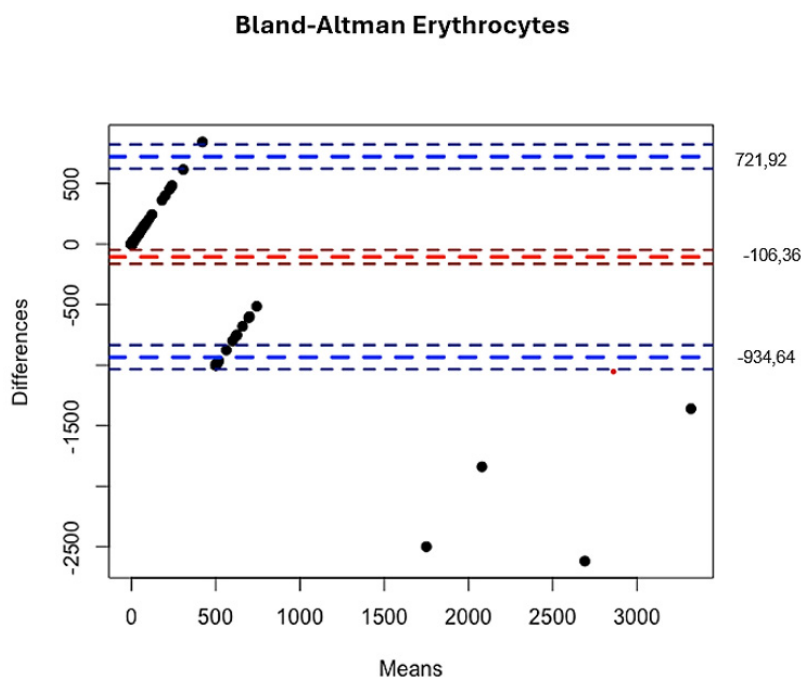
Para a quantificação eritrocitária, o valor utilizado para representar a distribuição das amostras, nomeadamente <1000 eritrócitos/ μL e ≥ 1000 eritrócitos/ μL , corresponde ao limite de detecção do equipamento Alinity hq. A maioria das amostras apresentou contagem eritrocitária <1000/ μL ; contudo, a discrepância entre ambos os métodos foi superior à observada para os leucócitos. Os resultados da contagem manual revelaram contagens eritrocitárias <1000/ μL em 92,8% das amostras e ≥ 1000 / μL em 7,21%; os resultados obtidos no Alinity hq demonstraram contagens eritrocitárias <1000/ μL em 82% das amostras e ≥ 1000 / μL em 18%.

A avaliação da potencial concordância entre métodos para a contagem eritrocitária utilizando o método de Bland-Altman encontra-se representada na Figura 3. Os valores médios das contagens obtidas pelos dois métodos estão representados no eixo X e, no eixo Y, as diferenças entre os dois métodos. A diferença média calculada (\bar{d}) entre as medições foi de -106,36, e os limites superior e inferior de concordância ($\bar{d} \pm 1,96$ desvio-padrão) foram de 721,92 e -934,64, respetivamente. O valor crítico do método (1,96 desvio-padrão - \bar{d}) foi de 828,28. Não foi observada dispersão dos resultados em torno da média em qualquer intervalo de resultados.

1000 erythrocytes/ μL . This makes statistical analysis impossible, as well as the method comparison.

For erythrocyte quantification, the value used to represent the sample distribution, namely <1000 erythrocytes/ μL and ≥ 1000 erythrocytes/ μL , represents the detection limit of the equipment Alinity hq. The majority of samples had an erythrocyte count < 1000/ μL ; however, the discrepancy between the two methods was greater than for leukocytes. Results by manual counting revealed erythrocyte counts <1000/ μL in 92.8% of the samples and ≥ 1000 / μL in 7.21%; results in Alinity hq produced erythrocyte counts <1000/ μL 82% of the samples and ≥ 1000 / μL in 18%.

The assessment of potential agreement of methods for erythrocyte cell counts using the Bland-Altman method is represented in Figure 3. The mean values of the counts obtained by the two methods are represented on the X axis, and the Y axis represents the differences between the two methods. Calculated mean difference (\bar{d}) between measurements was -106.36, and upper and lower limits of agreement ($\bar{d} \pm 1.96$ standard deviation) are 721.92 and -934.64, respectively. The critical value of the method (1.96 standard deviation - \bar{d}) is 828.28. No dispersion of results around the mean in any range of results was observed.



Figura/Figure 3: Gráfico de dispersão da análise de concordância eritrocitária, utilizando o método de Bland-Altman. No eixo X encontra-se a média das contagens obtidas pelos dois métodos e, no eixo Y, a diferença entre a contagem manual e a contagem automática. A linha vermelha representa \bar{d} (média das diferenças das contagens) e as linhas azuis representam os limites de concordância. Scatter plot of erythrocyte concordance analysis, using the Bland-Altman method. On the X axis, is the average of the counts obtained by two methods, and on the Y axis, is the difference between manual counting and automatic counting. The red line represents \bar{d} (mean of count differences) and the blue lines represent the limits of agreement.

4. DISCUSSÃO

Os laboratórios procuram cada vez mais implementar soluções automatizadas, associadas a ganhos no tempo de resposta e na precisão (Vicente-Aguadero *et al.*, 2018) e, em contextos de escassez de profissionais, permitem utilizar as competências dos profissionais de laboratório clínico onde estas são mais necessárias. A contagem manual de células no LCR pode estar associada a atrasos nos resultados, variabilidade de dados e requer a presença constante de pessoal qualificado (Vicente-Aguadero *et al.*, 2018; Manfred-Wick *et al.*, 2021). Os contadores celulares automáticos são uma realidade nos laboratórios modernos há décadas e, como tal, nos últimos anos, numerosos estudos têm sido realizados para determinar se podem representar uma alternativa para a prática clínica tradicional (Manfred-Wick *et al.*, 2021). Contudo, persistem algumas desvantagens intrínsecas relativamente a estes equipamentos: (1) o seu principal objetivo é contar células no sangue e, por isso, possuem intervalos analíticos de medição (AMR – *Analytical Measurement Range*) inadequados para as baixas concentrações celulares do LCR; (2) a matriz do LCR difere consideravelmente da matriz sanguínea (plasma); (3) em condições patológicas, podem estar presentes no LCR determinadas células não habitualmente observadas no sangue (e.g. células não hematopoiéticas), pelo que o equipamento não consegue classificá-las e estas podem potencialmente interferir na contagem (Vicente-Aguadero *et al.*, 2018). Consequentemente, a incapacidade dos contadores celulares de diferenciar valores normais de valores patológicos resulta numa aplicação prática reduzida ou inviável (Linda-Sandhaus *et al.*, 2017; Manfred-Wick *et al.*, 2021).

O presente estudo teve como objetivo comparar os dados da contagem celular do LCR obtidos utilizando o método manual de referência e o método automatizado no contador celular Alinity hq, de forma a avaliar se o método automatizado poderia ser implementado na rotina laboratorial.

Utilizando o método de Bland-Altman, avaliámos o grau e o significado das diferenças nas contagens celulares entre os dois métodos, apesar de os critérios de aceitação do método terem sido definidos com base em critérios clínicos (Davide-Giavarina, 2015). Para os leucócitos, o valor utilizado para definir a aceitação do método foi de 5 / μ L e, para os eritrócitos, 10 / μ L, valor acima do qual uma punção traumática deve ser considerada (D. Maroeska-Loo *et al.*, 2006).

Considerando que, para a quantificação eritrocitária no Alinity hq, os resultados eram reportados começando em 0 eritrócitos/ μ L e posteriormente em intervalos de 1000 eritrócitos/ μ L, tornou-se evidente que a concordância entre métodos não seria possível e que o método não se adequava ao nosso objetivo. Por outro lado, a análise dos dados leucocitários demonstrou que a grande maioria dos resultados apresentava baixas concentrações celulares. A diferença média (\bar{d}) obtida entre os dois métodos (método manual – Alinity hq) foi de -2,00 leucócitos/ μ L, significando que o Alinity hq sobrevaloriza, em média, a contagem do método manual em cerca de 2 leucócitos/ μ L. Através do cálculo do desvio-padrão das diferenças entre ambos os métodos, foi possível calcular os limites de concordância entre os métodos. Os limites de concordância, obtidos pela fórmula: $d \pm 1,96$ desvio-padrão, foram [-30,18 a 26,18]. Estes limites significam que 95% das diferenças obtidas

4. DISCUSSION

Laboratories increasingly seek to implement automated solutions, which are associated with gains in turnaround time and in precision (Vicente-Aguadero *et al.*, 2018) and in a labor shortage environment, it allows the utilization of the skills of medical laboratory professionals where they are most needed. Manual CSF cell counting can be associated with delayed results, data variability, and requires the constant presence of qualified personnel (Vicente-Aguadero *et al.*, 2018; Manfred-Wick *et al.*, 2021). Automatic cell counters have been a reality in modern laboratories for decades, and as such, in recent years, numerous studies have been carried out to determine whether they can represent an alternative to traditional clinical practice (Manfred-Wick *et al.*, 2021). However, there still subsist some intrinsic disadvantages regarding the latter: (1) their main goal is to count cells in the blood and as such have analytical measurement ranges (AMR – *Analytical Measurement Range*) that are not suitable for the low cellular concentrations of CSF; (2) the CSF matrix differs considerably from the blood matrix (plasma); (3) in pathological conditions, certain cells may be present in the CSF that are not usually seen in the blood (e.g. non-hematopoietic cells), therefore the equipment is unable to classify them and potentially they can interfere with the count (Vicente-Aguadero *et al.*, 2018). Consequently, the inability of cell counters to differentiate normal from pathological values results in a decreased or unfeasible practical application (Linda-Sandhaus *et al.*, 2017; Manfred-Wick *et al.*, 2021).

Here, we aimed to compare CSF cell count data, obtained using the standard manual method and the automated method in the Alinity hq cell counter, in order to evaluate whether the automation method could be implemented in the laboratory routine.

Using Bland-Altman analyses, we have analyzed the degree and meaning of the differences in cell counts between the two methods, even though the method acceptance criteria was defined based on clinical data (Davide-Giavarina, 2015). For leukocytes, the value used to define acceptance of the method was 5 / μ L, and 10 / μ L for erythrocytes, the value above which a traumatic puncture should be considered (D. Maroeska-Loo *et al.*, 2006).

Considering that for erythrocytes quantification in Alinity hq, the results were reported starting at 0 erythrocytes/ μ and then at intervals of 1000 erythrocytes/ μ L, it became clear that the agreement of methods would not be possible, and the method would not fit our purpose. On the other hand, leukocyte data analysis demonstrated that the vast majority of results had low cellular concentrations. The average difference (\bar{d}) obtained between the two methods (manual method – Alinity hq) was -2.00 leukocytes/ μ L, meaning that Alinity hq overvalues the manual method count, on average, by around 2 leukocytes / μ L. By calculating the standard deviation of the differences between both methods, we can calculate the limits of agreement between the methods. The limits of agreement, obtained by the formula: $d \pm 1.96$ standard deviation, are [-30.18 to 26.18]. These limits mean that 95% of the differences obtained between methods can vary up to ± 28.179 leukocytes/ μ L. This result constitutes the method's

entre métodos podem variar até $\pm 28,179$ leucócitos/ μL . Este resultado constitui o valor crítico do método, representando o valor acima do qual o equipamento poderia ser utilizado, neste caso, muito acima do limite de aceitação estabelecido. As diferenças obtidas nas contagens celulares dentro deste intervalo foram atribuídas a diferenças inerentes aos métodos, enquanto as diferenças fora dos limites identificados resultaram de limitações técnicas do Alinity hq. Como a maioria das amostras apresentava baixas concentrações leucocitárias, consideramos pertinente determinar a capacidade do equipamento de diferenciar amostras normais de amostras patológicas. Para atingir este objetivo, obtivemos uma curva ROC com uma AUC de 0,5835, sugerindo que o Alinity hq apresenta um desempenho discriminatório baixo. Globalmente, considerando que a grande maioria das amostras se encontra abaixo do valor crítico, a implementação desta metodologia como rotina não é viável, exceto possivelmente em situações em que não existam profissionais qualificados disponíveis e apenas como ferramenta de triagem.

As diferenças entre os métodos podem ser explicadas por limitações técnicas inerentes:

(1) O principal objetivo do Alinity hq é contar células no sangue periférico, cujas concentrações celulares são muito superiores. As amostras com baixa celularidade (5 – 30 leucócitos/ μL) são aquelas em que a imprecisão do equipamento é maior (Manfred-Wick et al., 2021) e nas quais diferenças nos valores obtidos, mesmo que pequenas, podem ter implicações clínicas.

Embora os eritrócitos não possuam valores de referência ou valores críticos de decisão no LCR tão rigorosos como os leucócitos, deve pelo menos tentar-se quantificar pequenas contaminações sanguíneas (<1000 eritrócitos/ μL) (Manfred-Wick et al., 2021). Relativamente à utilização do Alinity hq para fornecer uma melhor estimativa de amostras muito hemáticas, e considerando que geralmente o método manual reporta o resultado como >1000 eritrócitos/ μL , deve ter-se em conta que o software do fabricante bloqueia valores inferiores a 1000 eritrócitos/ μL devido à baixa precisão dos resultados (Manfred-Wick et al., 2021) e que o AMR do Alinity hq varia entre $0,1 \times 10^6/\mu\text{L}$ e $8,08 \times 10^6/\mu\text{L}$, o que significa que, para valores dentro deste intervalo, existem garantias de precisão fornecidas pelo fabricante; contudo, poderíamos afirmar o mesmo para valores entre 1000 e 10000 eritrócitos/ μL ? Embora tenhamos algumas amostras quantificadas manualmente com resultados desta ordem de grandeza, o valor crítico obtido pela análise de Bland-Altman (828,28 eritrócitos/ μL) sugere que esta possibilidade é viável. Um desenvolvimento futuro a considerar para contrariar estas limitações seria a instalação de um módulo (software) para fluidos biológicos, já disponível em alguns fabricantes, com menores diluições e utilização de um maior volume de amostra.

(2) O ambiente do LCR é tóxico para as células e limita significativamente a sua sobrevivência (Ferdinand-Otto et al., 2022). Assim, a utilização de reagentes que induzem lise eritrocitária durante o pré-tratamento da amostra pode conduzir a contagens inferiores às obtidas manualmente.

(3) O procedimento do estudo exige que, antes do processamento das amostras de LCR para análise no Alinity

critical value, representing the result above which we can use the equipment, in this case, well above the established acceptance limit. The differences obtained in the cell counts that are within this range are attributed to differences inherent to the methods, and the out-of-bounds differences identified were the result of Alinity hq technical limitations. As most samples had low concentrations of leukocytes, we considered it pertinent to determine the equipment's ability to differentiate between normal and pathological samples. In order to achieve this goal, we obtained a ROC curve with an AUC of 0.5835, suggesting that the Alinity hq does have a low acceptable discriminatory performance. Overall, considering that the vast majority of samples are below the critical value, the implementation of this methodology as a routine is not feasible, with the possible exception, when there are no available qualified professionals, and only as a screening.

The differences between the methods can be explained by inherent technical limitations:

(1) the Alinity hq main objective is to count cells in peripheral blood, whose cell concentrations are much higher. Samples with low cellularity (5 – 30 leukocytes/ μL) are those where the equipment's inaccuracy is greater (Manfred-Wick et al., 2021) and whose differences in values are found, however small they may be, may have clinical implications.

Although erythrocytes do not have CSF reference values or critical decision values as stringent as leukocytes, one should at least try to quantify small blood contaminations (<1000 erythrocytes/ μL) (Manfred-Wick et al., 2021). Concerning using Alinity hq to give a better estimate of very hematic samples, and that generally, the manual method gives the result as >1000 erythrocytes/ μL , it must be taken into account that the manufacturers' software blocks values below 1000 erythrocytes/ μL , due to the low precision of the results (Manfred-Wick et al., 2021) and that the AMR of Alinity hq is from $0.1 \times 10^6/\mu\text{L}$ to $8.08 \times 10^6/\mu\text{L}$, which means that for values within this range, we would have accuracy guarantees from the manufacturer, but could we do so for values between 1000 and 10000 erythrocytes/ μL ? Although we have a few manually quantified samples with results of this order of magnitude, the critical value obtained by Bland-Altman analysis (828.28 erythrocytes/ μL) suggests that this possibility is feasible. A development to be taken into account in the future that could counter these limitations would be the installation of a biological fluids module (software), already available by some manufacturers, with lower dilutions and using a larger sample volume.

(2) CSF environment is toxic to cells and greatly limits their lifespan (Ferdinand-Otto et al., 2022). Therefore, the use of reagents that induce erythrocyte lysis during sample pretreatment may lead to counts that are lower than manual counts.

(3) The study procedure requires that, before processing CSF samples for Alinity hq analysis, one or more background readings must be undertaken to guarantee the performance of the equipment. When performing the background reading, the transfer of blood components from a sample generally with high cellularity to another with low cellularity, or a CSF dilution with a non-blood sample processed previously (carry-

hq, sejam realizadas uma ou mais leituras de *background* para garantir o desempenho do equipamento. Durante a leitura de *background*, deve evitar-se a transferência de componentes sanguíneos de uma amostra geralmente com elevada celularidade para outra com baixa celularidade, ou uma diluição do LCR com uma amostra não sanguínea previamente processada (*carry-over*) (G.-Bourner et al., 2014; Joachim-Pum, 2019). Nos contadores hematológicos, a principal preocupação relativamente ao fenómeno de *carry-over* está associada à sobrevalorização das contagens. Caso ocorra o fenómeno de pré-diluição, o equipamento não cumprirá os seus critérios de desempenho e este facto representará certamente um problema não apenas para as amostras de LCR, mas também para outras amostras biológicas, bem como para os resultados do controlo interno de qualidade. Assim, em todos os contadores celulares que utilizam sistemas de pipetagem automática, deve ser realizado um estudo de *carry-over* (Joachim-Pum, 2019). Considerando a baixa celularidade do LCR, a avaliação do potencial *carry-over* é essencial e, caso os resultados não estejam de acordo com os limites de aceitação, deve ser solicitada manutenção ou intervenção no equipamento (G.-Bourner et al., 2014).

(4) As contagens mais elevadas obtidas com o Alinity hq, comparativamente ao método manual, podem ser explicadas por partículas distintas de leucócitos ou eritrócitos que podem influenciar as contagens (Manfred-Wick et al., 2021). Entre os possíveis interferentes incluem-se agentes microbianos (bactérias e fungos), lipossomas, detritos celulares e agregados celulares. Segundo alguns autores, é possível que as interferências possam ser detetadas nos citogramas do equipamento (Manfred-Wick et al., 2021). O aperfeiçoamento dos algoritmos de leitura de *background* poderá eventualmente ultrapassar estas interferências.

O reduzido número de amostras patológicas obtidas não permitiu recolher dados estatisticamente significativos para determinar que informação poderia ser extraída dos citogramas e *flags* do Alinity hq.

Globalmente, os nossos resultados não suportam a implementação do contador celular Alinity hq para quantificação leucocitária e/ou eritrocitária no LCR na rotina laboratorial.

5. CONCLUSÃO

A contagem e diferenciação celular no LCR são cruciais para o diagnóstico de várias patologias relacionadas com o SNC. Apesar das características tecnológicas do Alinity hq e do facto de cumprir todos os requisitos para os quais foi concebido, as contagens celulares no LCR continuam a representar um desafio, sobretudo devido aos baixos valores de referência. Tanto para leucócitos como para eritrócitos, os valores de concordância obtidos para a implementação da contagem celular não estavam de acordo com os limites de aceitação clinicamente definidos. Assim, o Alinity hq não pode ser considerado útil para a contagem de células do LCR em substituição do método manual tradicional. Adicionalmente, a elevada percentagem de amostras reportadas com resultados abaixo do valor crítico opõe-se à utilização do Alinity hq como ferramenta de triagem.

over), must be avoided (G.-Bourner et al., 2014; Joachim-Pum, 2019). In hematological counters, the main concern with the carry-over phenomenon is associated with counting overvaluation. If the pre-dilution phenomenon occurs, the equipment will not meet its performance criteria, and this fact will certainly not only represent a problem for CSF samples, but also for other biological samples, as well as for the results of the internal quality control. Therefore, on all the cell counters that use auto-pipetting systems, a carry-over study should be conducted (Joachim-Pum, 2019). Considering CSF low cellularity, potential carry-over assessment is essential, and if the results are not in accordance with the acceptance limits, maintenance or intervention on the equipment must be requested (G.-Bourner et al., 2014).

(4) The higher counts obtained with Alinity hq, compared to the manual method, can be explained by particles other than leukocytes or erythrocytes that can influence the counts (Manfred-Wick et al., 2021). Possible interferers include microbial agents (bacteria and fungi), liposomes, cellular debris, and cellular aggregates. According to some authors, it is possible that interferences can be detected in the equipment's cytograms (Manfred-Wick et al., 2021). Improvement of background reading algorithms could eventually overcome these interferences.

The low number of pathologic samples obtained did not allow for the collection of statistically significant data to determine what information could be extracted from cytograms and flags of the Alinity hq.

Overall, our results do not support the implementation of Alinity hq cell counter for CSF leukocyte and/or erythrocyte quantification in the routine laboratory.

5. CONCLUSION

CSF cell counting and differentiation are crucial for the diagnosis of several CNS-related pathologies. Despite the technological characteristics of Alinity hq and the fact that it complies with all the requirements for which it was designed, the CSF cell counts remain a challenge, mostly due to the low reference values. For both leukocytes and erythrocytes, the obtained agreement values for cell count implementation were not in accordance with the clinically defined acceptance limits. Therefore, the Alinity hq cannot be judged useful to count CSF cells, replacing the traditional manual method. Additionally, the large percentage of samples reported with results below the critical value opposes the use of Alinity hq as a screening tool.

DECLARATION OF CONFLICTING INTERESTS

The authors declare that there are no conflicts of interest

ACKNOWLEDGMENTS

The study took place in the SPC hematology laboratory, located at IPOLFG, without associated funding. H&TRC author gratefully acknowledges the FCT/MCTES national support through the UIDB/05608/2020 and UIDP/05608/2020.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não existirem conflitos de interesse.

AGRADECIMENTOS

O estudo decorreu no laboratório de hematologia do SPC, localizado no IPOLFG, sem financiamento associado. O autor H&TRC agradece o apoio nacional da FCT/MCTES através dos projetos UIDB/05608/2020 e UIDP/05608/2020.

CONTRIBUIÇÕES DE AUTORIA

Conceptualização, F.B., R.B. e E.R.; metodologia, F.B.; software, F.B.; validação, R.B.; análise formal, F.B., R.B.; investigação, F.B., R.B.; recursos, F.B., R.B.; curadoria de dados, F.B., R.B.; redação do rascunho original, F.B.; revisão e edição do manuscrito, F.B. e E.R.; visualização, F.B.; supervisão, F.B. e E.R.; coordenação do projeto, R.B. e E.R. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

AUTHORIAL CONTRIBUTIONS

Conceptualization, F.B., R.B. and E.R.; methodology, F.B.; software, F.B.; validation, R.B.; formal analysis, F.B., R.B.; investigation, F.B., R.B.; resources, F.B., R.B.; data curation, F.B., R.B.; writing-original draft preparation, F.B.; writing-review & editing, F.B. and E.R.; visualization, F.B.; supervision, F.B. and E.R.; project coordination, R.B. and E.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- Archetti C, Montanelli A, Finazzi D, Caimi L, Garrafa E. Clinical laboratory automation: a case study. *Journal of Public Health Research*, 2017.
- Aguadero V, Cano-Corres R, Berlanga E, Torra M. Evaluation of biological fluid analysis using the Sysmex XN automatic hematology analyzer. *Cytometry Part B - Clinical Cytometry* 94(5):680-688, 2018.
- Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*:307-310, 1986.
- Bourner G, De La Salle B, George T, Tabes Y, Baum H, Culp N, Keng TB. ICSH guidelines for the verification and performance of automated cell counters for body fluids. *International Journal of Laboratory Hematology* 36(6):598-612, 2014.
- Briggs C, Culp N, Davis B, D'Onofrio G, Zini G, Machin SJ. ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. *International Journal of Laboratory Hematology* 36(6):613-627, 2014.
- Doğan NÖ. Bland-Altman analysis: A paradigm to understand correlation and agreement. *Turkish Journal of Emergency Medicine* 18(4):139-141, 2018.
- Fortin MF. Fundamentos e etapas do processo de investigação. Lusodidata, 2006.
- Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. *Biochemia Medica* 25(2):141-151, 2015.
- Herroelen P, Demeester S, Damiaens S, Evenepoel A, Jochmans K. Performance of Abbott Alinity hq hematology analyzer for automated cell counting of body fluids. *International Journal of Laboratory Hematology* 44(1):96-103, 2022.
- Kjeldsberg C, Knight J. Body fluids laboratory examination of cerebrospinal, seminal, serous & synovial fluids. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1993.
- Otto F, Harrer C, Pilz G, Wipfler P, Harrer A. Cerebrospinal fluid cells in diagnostics and research: State-of-the-art and underutilized opportunities. *Diagnostics* 12(1), 2022.
- Pum J. A practical guide to validation and verification of analytical methods in the clinical laboratory. *Advances in Clinical Chemistry* 90:215-281, 2019.
- Roccaforte V, Daves M, Proserpio V, Sciarini F, Sangiorgio R, Costanzo A, Di Pierro AM, Ugo S, Lippi G, Bonato C. Evaluation of body fluid mode of Sysmex XN-9000 for white blood cell counts in cerebrospinal fluid. *Journal of Laboratory and Precision Medicine* 3:22-22, 2018.
- Sandhaus L, Dillman C, Hinkle W, MacKenzie J, Hong G. A new automated technology for cerebrospinal fluid cell counts. *American Journal of Clinical Pathology* 147(5):507-514, 2017.
- te Loo DMWM, Kamps WA, van der Does-van den Berg A, van Wering ER, de Graaf SSN. Prognostic significance of blasts in the cerebrospinal fluid without pleiocytosis or a traumatic lumbar puncture in children with acute lymphoblastic leukemia: Experience of the Dutch Childhood Oncology Group. *Journal of Clinical Oncology* 24(15):2332-2336, 2006.
- Van der Beken Y, Van Dalem A, Van Moer G, Segers E, Damiaens S, Hoffmann J, Lakos G, Jochmans K. Performance evaluation of the prototype Abbott Alinity hq hematology analyzer. *International Journal of Laboratory Hematology* 41(4):448-455, 2019.
- Wick M, Gross CC, Tumani H, Wildemann B, Stangel M. Automated analysis of cerebrospinal fluid cells using commercially available blood cell analysis devices – A critical appraisal. *Cells*, 2021.

Intervenções de Enfermagem para a gestão da dor pós-transplante hepático: Revisão Integrativa da Literatura

Nursing Interventions for pain management after liver transplantation: an Integrative Evidence Review

João Pereira Silva¹ , Diana Sousa^{2,3*} 

¹Gabinete de Coordenação Colheita e Transplante, Unidade Local de Saúde de Santo António, Porto, Portugal

²Serviço de Medicina Intensiva, Unidade Local de Saúde de Matosinhos, Porto, Portugal

³Escola Superior de Enfermagem da Universidade do Porto, Porto, Portugal

*Autor correspondente/Corresponding author: diana.j.sousa@live.com.pt

Recebido/Received: 30-09-2025; Revisto/Revised: 26-01-2026; Aceite/Accepted: 27-01-2026

Resumo

Introdução: A gestão da dor na pessoa submetida a transplante hepático é um desafio clínico relevante, e pode ter um impacto direto na sua recuperação funcional, conforto e qualidade de vida. A proximidade contínua do enfermeiro, confere-lhe um papel privilegiado para intervir precocemente e ajustadamente às suas necessidades, contribuindo para cuidados mais humanizados, traduzidos em ganhos em saúde. **Objetivos:** Com esta revisão pretende-se sintetizar a evidência disponível sobre intervenções de enfermagem na gestão da dor em pessoas recetoras de transplante hepático, durante o período pós-operatório. **Material e Métodos:** Foi realizada uma revisão integrativa da literatura, recorrendo às bases de dados CINAHL, MEDLINE, Cochrane Library, MedicLatina e RCAAP, entre julho e agosto de 2025. Foi adotada a metodologia PRISMA para a seleção dos artigos. Foram considerados como critérios de inclusão, artigos em inglês, português ou espanhol, publicados entre 2021 e 2025, com texto integral disponível. **Resultados:** De 940 artigos inicialmente identificados, resultaram 8 artigos finais para análise. Intervenções focadas na prevenção, como a avaliação sistemática da dor, posição antiálgica, mobilização e treino respiratório, são sugeridas e associadas a ganhos clínicos a curto e a longo prazo. Assim como, estratégias farmacológicas multimodais são recomendadas ao invés da utilização de opióides. **Conclusões:** Apesar da escassez de estudos específicos, a evidência aponta para um papel determinante do enfermeiro na operacionalização de estratégias multimodais através da sua gestão e administração, e intervenções autónomas e humanizadas de enfermagem na gestão da dor, com impacto positivo na recuperação e qualidade de vida das pessoas transplantadas.

Palavras-chave: Dor; Analgesia; Transplante hepático; Pós-operatório.

Abstract

Introduction: Pain management in liver transplant recipients is a significant clinical challenge and can have a direct impact on a patient's functional recovery, comfort, and quality of life. The continuous proximity of the nurse is a privileged role for early and proper intervention towards the patient's needs, contributing to a more humanized care and resulting in health gains. **Objectives:** This review aims to synthesize the available evidence on nursing interventions for pain management in liver transplant recipients during the postoperative period. **Material and Methods:** An integrative literature review was conducted using the CINAHL, MEDLINE, Cochrane Library, MedicLatina, and RCAAP databases between July and August 2025. The PRISMA methodology was adopted for article selection. Inclusion criteria considered were articles in English, Portuguese, or Spanish, published between 2021 and 2025, with full text available. **Results:** From 940 articles initially identified, 8 final articles were selected for analysis. Interventions focused on prevention, such as systematic pain assessment, antalgic positioning, mobilization, and respiratory training, are suggested and associated with short- and long-term clinical gains. Similarly, multimodal pharmacological strategies are recommended instead of opioid use. **Conclusions:** Despite the scarcity of specific studies, the evidence points to a crucial role for nurses in operationalizing multimodal strategies through their management and administration, and autonomous and humanized nursing interventions in pain management, with a positive impact on the recovery and quality of life of transplant recipients.

Keywords: Pain; Analgesia; Liver transplantation; Postoperative.

1. INTRODUÇÃO

O transplante hepático é considerado uma das intervenções cirúrgicas mais complexas e desafiadoras da prática contemporânea, representando uma esperança terapêutica para pessoas em fase terminal de insuficiência hepática (Chuttani et al., 2025). Em Portugal, de acordo com os dados mais recentes da Sociedade Portuguesa de Transplantação, este é o segundo transplante sólido mais frequente, a seguir ao renal (IPST, 2025). Contudo, a sua taxa de complicações no período pós-operatório é relevante, sendo a dor uma das manifestações clínicas mais comuns e incapacitantes (Kaur et al., 2023).

A dor após o transplante hepático tem uma fisiopatologia complexa, envolvendo componentes inflamatórios, neuromusculares e emocionais (Duarte et al., 2025). A incisão cirúrgica extensa, a manipulação visceral, a necessidade de dispositivos de drenagem, e a ventilação mecânica contribuem para uma experiência dolorosa intensa. Acresce o impacto psicológico da cirurgia, frequentemente associada a ansiedade, medo de rejeição do enxerto e insegurança relativamente ao futuro (Jing et al., 2023). Em situações de transplante hepático, a gestão da dor constitui um desafio pelas alterações farmacocinéticas e farmacodinâmicas associadas à doença hepática, que se traduzem num risco de acúmulo de analgésicos por função hepática instável e com interações associadas aos imunossuppressores (Belfiore et al., 2024). Na atualidade, a dor pós-transplante hepático pode ser subvalorizada e ainda muito associada a estratégias de controlo de dor mais convencionais. Sobretudo nesta tipologia de doentes, a gestão da dor assume um papel desafiante, e fundamental, pois compromete não apenas a mobilização precoce e a ventilação eficaz, mas também a adesão terapêutica no futuro, o sono, a qualidade de vida e o bem-estar emocional da pessoa (Belfiore et al., 2024; Dogan et al., 2024). O papel da enfermagem é central, pela sua proximidade com o doente e a família colocando-a numa posição privilegiada para promover uma abordagem humanizada, integrando ciência, técnica e valores éticos (Horn et al., 2025; Qu et al., 2025). Justifica-se assim, a necessidade de perceber quais as intervenções mais recomendadas, baseadas na evidência, no âmbito farmacológico, e sobretudo no âmbito não farmacológico.

Com esta revisão, pretende-se sintetizar as intervenções de enfermagem (autónomas e/ou interdependentes) focadas na dor da pessoa submetida a transplante hepático, contribuindo para uma prática de enfermagem mais significativa, sustentada na evidência.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma revisão integrativa da literatura, de acordo com a questão de investigação: "quais as intervenções de enfermagem para o controlo da dor em pessoas submetidas a transplante hepático durante o período pós-operatório?". Foi estruturada uma pergunta PICO para delinear a investigação de forma mais organizada e clara: P – "população" – pessoas (adultas) submetidas a transplante hepático no período pós-operatório; I – "intervenção" – intervenções de enfermagem para o controlo da dor; C – "comparação" – está omitido e não foi definido propositadamente, pois pretende-se abranger resultados que englobem todo o tipo de intervenções, explorando o

1. INTRODUCTION

Liver transplantation is considered one of the most complex and challenging surgical interventions in contemporary practice, representing a therapeutic hope for people in the terminal phase of liver failure (Chuttani et al., 2025). In Portugal, according to the most recent data from the Portuguese Transplantation Society, this is the second most frequent solid organ transplant, after kidney transplantation (IPST, 2025). However, its complication rate in the postoperative period is significant, with pain being one of the most common and disabling clinical manifestations (Kaur et al., 2023).

Pain after liver transplantation has a complex pathophysiology, involving inflammatory, neuromuscular, and emotional components (Duarte et al., 2025). Extensive surgical incision, visceral manipulation, the need for drainage devices, and mechanical ventilation contribute to an intense painful experience. Added to this is the psychological impact of surgery, frequently associated with anxiety, fear of graft rejection, and insecurity about the future (Jing et al., 2023). In liver transplant situations, pain management is a challenge due to the pharmacokinetic and pharmacodynamic alterations associated with liver disease, which translate into a risk of analgesic accumulation due to unstable liver function and interactions with immunosuppressants (Belfiore et al., 2024). Currently, post-liver transplant pain may be undervalued and still largely associated with more conventional pain control strategies. Especially in this type of patient, pain management plays a challenging and fundamental role, as it compromises not only early mobilization and effective ventilation, but also future therapeutic adherence, sleep, quality of life, and the person's emotional well-being (Belfiore et al., 2024; Dogan et al., 2024). The role of nursing is central, due to its proximity to the patient and family, placing it in a privileged position to promote a humanized approach, integrating science, technique, and ethical values (Horn et al., 2025; Qu et al., 2025). This justifies the need to understand which interventions are most recommended, based on evidence, in the pharmacological field, and especially in the non-pharmacological field.

This review aims to synthesize nursing interventions (autonomous and/or interdependent) focused on pain in individuals undergoing liver transplantation, contributing to a more meaningful, evidence-based nursing practice.

2. MATERIALS AND METHODS

An integrative literature review was conducted, based on the research question: "What are the nursing interventions for pain control in people undergoing liver transplantation during the postoperative period?". A PICO question was structured to outline the research in a more organized and clear way: P – "population" – people (adults) undergoing liver transplantation in the postoperative period; I – "intervention" – nursing interventions for pain control; C – "comparison" – omitted and intentionally not defined, as the intention is to encompass results that include all types of interventions, exploring the individual impact of each one, and subsequently discriminating those considered most recommended/most effective; O – "outcome" – is implicit and refers to the pain control of the transplanted person.

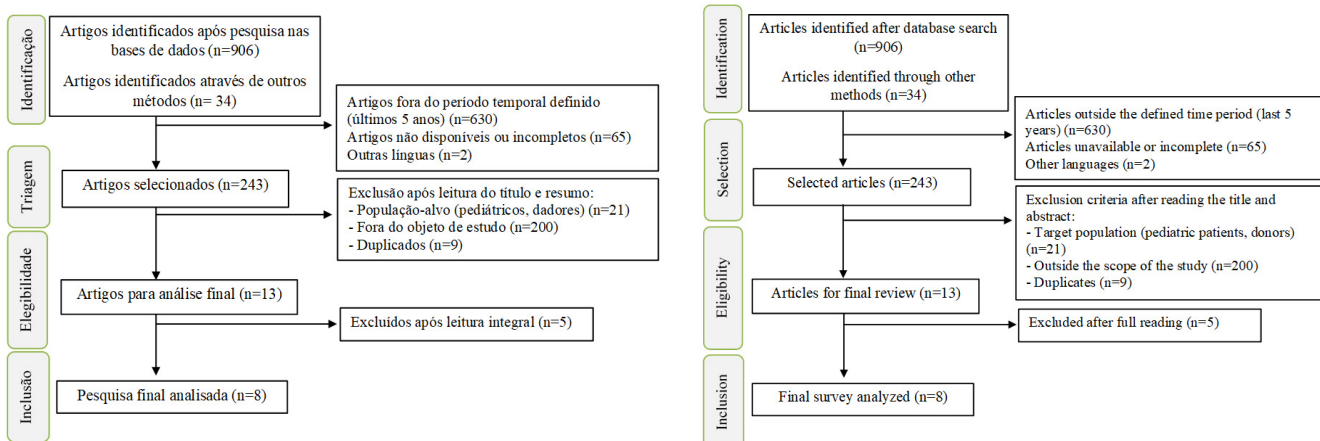
impacto individual de cada uma, podendo-se discriminar posteriormente as consideradas mais recomendadas/ mais eficazes; O – “outcome” – ou “resultado”, está implícito, e refere-se ao controlo da dor da pessoa transplantada.

A pesquisa decorreu entre julho e agosto de 2025, nas bases de dados CINAHL, MEDLINE, Cochrane Library, MedicLatina e RCAAP. Utilizaram-se os descritores MeSH: “pain”, “analgesia”, “liver transplantation”, “postoperative”, combinados pela expressão booleana: “(pain OR analgesia) AND (liver transplantation) AND postoperative”. Para além da pesquisa eletrónica, foi realizada a análise manual das listas de referências bibliográficas dos artigos elegíveis, com o objetivo de identificar estudos adicionais potencialmente relevantes, conforme recomendações do PRISMA (2020), visando maximizar a sensibilidade da busca. A estratégia de seleção dos artigos seguiu a metodologia PRISMA (2020) (figura 1), com as etapas: identificação, triagem, elegibilidade e inclusão.

Inicialmente, foram identificados 906 artigos nas bases de dados e 34 artigos das listas de referências. Após aplicação dos critérios de inclusão (artigos publicados entre 2021 e 2025, disponíveis na íntegra, em português, inglês ou espanhol), resultaram 243 artigos. Estes, foram sujeitos a leitura do título e resumo por dois revisores independentes, de acordo com os critérios de inclusão e, posteriormente, aplicando os critérios de exclusão previamente definidos (população – adultos e recetores de órgão, objeto de estudo e artigos duplicados). Dos 14 artigos resultantes, e lidos na íntegra por ambos os revisores, 8 cumpriam os critérios finais, sujeitos a revisão e classificação do nível de evidência de acordo com a JBI (2014). Destes 8, derivaram da pesquisa em bases de dados 4 artigos, e os restantes 4 derivaram da lista de referências. Em nenhuma fase da seleção de artigos houve discordância entre os dois revisores, caso contrário, e em caso de necessidade, recorrer-se-ia a um terceiro revisor para decisão final.

The research was conducted between July and August 2025 in the CINAHL, MEDLINE, Cochrane Library, MedicLatina, and RCAAP databases. The MeSH descriptors used were: “pain”, “analgesia”, “liver transplantation”, “postoperative”, combined with the Boolean expression: “(pain OR analgesia) AND (liver transplantation) AND postoperative”. In addition to the electronic search, a manual analysis of the bibliographic reference lists of eligible articles was performed to identify potentially relevant additional studies, as recommended by PRISMA (2020), aiming to maximize the sensitivity of the search. The article selection strategy followed the PRISMA (2020) methodology (Figure 1), with the following steps: identification, screening, eligibility, and inclusion.

Initially, 906 articles were identified in the databases and 34 articles from the reference lists. After applying the inclusion criteria (articles published between 2021 and 2025, available in full text, in Portuguese, English, or Spanish), 243 articles remained. These were subjected to reading of the title and abstract by two independent reviewers, according to the inclusion criteria and, subsequently, applying the previously defined exclusion criteria (population – adults and organ recipients, object of study, and duplicate articles). Of the 14 resulting articles, and read in full by both reviewers, 8 met the final criteria, subject to review and classification of the level of evidence according to JBI (2014). Of these 8, 4 articles were derived from the database search, and the remaining 4 were derived from the reference list. At no stage of the article selection process was there any disagreement between the two reviewers; otherwise, and if necessary, a third reviewer would have been consulted for the final decision.



Figura/Figure 1: Metodologia de pesquisa dos artigos (PRISMA, 2020)/Research methodology for the articles (PRISMA, 2020).

Tabela/Table 1: Caracterização metodológica dos artigos analisados (JBI, 2016)/Methodological characterization of the analyzed articles (JBI, 2016).

Ano, País/ Year, Country	Autor (es)/ Author (es)	Título/ Title	Tipo de estudo/ Type of study	Principais conclusões/ Conclusions	Nível de evidência/ Evidence level
2024, China/	Sun et al.	<i>Factors Influencing Stress Disorders in Intensive Care Unit (ICU) Patients After Liver Transplantation: A Cross-Sectional Study</i>	Observacional analítico/ Analytical Observational	Em 184 recetores de transplante hepático, 22.83% apresentaram stress pós-traumático associado à presença de maiores níveis de dor e a ansiedade/depressão no pós-operatório. O controlo da dor reduz risco de stress pós-traumático. A equipa de enfermagem deve procurar controlar a dor da pessoa e garantir educação para a saúde direcionada e um aconselhamento psicológico personalizado/In a study of 184 liver transplant recipients, 22.83% presented with post-traumatic stress associated with higher levels of pain and postoperative anxiety/depression. Pain management reduces the risk of post-traumatic stress. The nursing team should aim to control the person's pain and ensure targeted health education and personalized psychological counseling.	4
2022, Vários/	Sun et al.	<i>Optimal management of perioperative analgesia regarding immediate and short-term outcomes after liver transplantation – A systematic review, meta-analysis and expert panel recommendations</i>	Revisão sistemática com meta-análise/ Systematic review with meta-analysis	9 estudos analisados. Os protocolos de evicção de opióides resultaram em melhores resultados a curto prazo. A mortalidade foi reduzida neste grupo. O tempo para extubação, o internamento em UCI e a dor após a cirurgia foram menores no grupo de prevenção de opióides/ 9 studies were analyzed. Opioid avoidance protocols resulted in better short-term outcomes. Mortality was reduced in this group. Time to extubation, ICU stay, and postoperative pain were lower in the opioid avoidance group.	1
2024, Itália/	Belfiore et al.	<i>Pain management in liver transplant recipients: a focus on current and future strategies</i>	Opinião de especialistas/ Expert opinion	Analgesia pós-transplante hepático é subvalorizada. Recomenda-se alternativas aos opióides, tais como: paracetamol, gabapentinóides, cetamina e infiltração local. Em doentes com perfil hemostático adequado, pode ainda recorrer-se a analgesia epidural e bloqueio do abdominal transverso. É necessária mais investigação/Post-liver transplant analgesia is undervalued. Alternatives to opioids are recommended, such as paracetamol, gabapentinoids, ketamine, and local infiltration. In patients with an adequate hemostatic profile, epidural analgesia and transverse abdominal block may also be used. Further research is needed.	5
2021, China/	Wang et al.	<i>Study on the relieving effect of evidence-based nursing model on pain nursing of patients after liver transplantation</i>	Ensaio Clínico Randomizado/ Randomized Clinical Trial	Um modelo de enfermagem baseada em evidência: avaliação sistemática da dor, intervenção psicológica, posição antiálgica, mobilização e treino respiratório - quando comparado com as práticas convencionais, reduziu dor moderada/grave, melhorou sono e reduziu internamento, melhorando a qualidade de vida da pessoa após transplante/An evidence-based nursing model—systematic pain assessment, psychological intervention, antalgic positioning, mobilization, and respiratory training—when compared to conventional practices, reduced moderate/severe pain, improved sleep, and reduced hospitalization, improving the quality of life of the person after transplantation.	2
2020, EUA/	Fukazawa et al.	<i>Perioperative opioid use and chronic post-surgical pain after liver transplantation</i>	Observacional retrospectivo/ Retrospective Observational	A necessidade de utilização de opióides no pós-operatório está associada à sua utilização prévia no pré-operatório. Esta utilização contribui para uma maior incidência de dor pós-cirúrgica crónica e maior taxa de mortalidade nestes casos/ The need for opioid use post-operatively is associated with its prior use pre-operatively. This use contributes to a higher incidence of chronic post-surgical pain and a higher mortality rate in these cases	3
2021, Noruega/	Hausken et al.	<i>Thoracic Epidural Analgesia for Postoperative Pain Management in Liver Transplantation</i>	Observacional retrospectivo/ Retrospective Observational	322 recetores de transplante. A analgesia epidural torácica é segura em doentes sem coagulopatia, com eficácia no controlo da dor pós-operatória, mas sem influência direta sobre a necessidade do consumo de opióides a médio prazo/322 transplant recipients. Thoracic epidural analgesia is safe in patients without coagulopathy, effective in controlling postoperative pain, but without directly influencing the need for opioid use in the medium term.	3
2020, Canadá/	Verret et al.	<i>Perioperative use of gabapentinoids for the management of postoperative acute pain</i>	Revisão sistemática com meta-análise/ Systematic review with meta-analysis	281 estudos incluídos. Gabapentinóides não apresentam benefício clínico significativo na dor aguda ou crónica e aumentam o risco de efeitos adversos (tonturas e distúrbios visuais)/ 281 studies included. Gabapentinoids do not show significant clinical benefit in acute or chronic pain and increase the risk of adverse effects (dizziness and visual disturbances).	1
2020, Turquia/	Demir & Saritas	<i>Effect of hand massage on pain and anxiety in patients after liver transplantation</i>	Ensaio Clínico Randomizado/ Randomized Clinical Trial	80 doentes pós-cirúrgicos. A massagem terapêutica manual, enquanto intervenção autónoma de enfermagem, reduz significativamente a dor e a ansiedade da pessoa após receção de transplante hepático/80 post-surgical patients. Manual therapeutic massage, as an autonomous nursing intervention, significantly reduces pain and anxiety in individuals after liver transplantation.	2

3. RESULTADOS

Dos artigos selecionados, apenas um deles, classificado como menos robusto no nível de evidência, foi incluído por se considerar que apresenta resultados relevantes para a questão de investigação definida.

Um ensaio clínico randomizado de Wang e colaboradores (2021) analisou o impacto de um modelo de enfermagem baseado na evidência no controlo da dor pós-transplante hepático, na China. Este modelo era constituído por intervenções autónomas de enfermagem e maioritariamente focadas na prevenção da dor, desde a sua avaliação sistemática à implementação de posição antiálgica, mobilização e treino respiratório (Wang et al., 2021). Os resultados deste ensaio foram positivos, com uma diminuição da dor, menor tempo de internamento, maior satisfação e melhoria do sono da pessoa submetida a transplante hepático (Wang et al., 2021).

A revisão sistemática com meta-análise de investigadores de vários países, como Sun e colaboradores (2022), sobre estratégias analgésicas no perioperatório de transplante hepático, concluiu que a dor foi significativamente reduzida quando utilizados fármacos não opióides (paracetamol, gabapentina, cetamina, tramadol, anestésicos locais), com resultados benéficos a curto e longo prazo (tempo de extubação, tempo de internamento em UCI, taxa de mortalidade). No entanto, a qualidade da evidência utilizada foi considerada de moderada a baixa, pelo que mais estudos e revisões são necessárias (Sun et al., 2022). Um estudo observacional retrospectivo de Fukazawa e colaboradores (2020) também avaliou a utilização de analgésicos opióides em 322 recetores de transplante hepático, concluindo que os opióides são frequentemente utilizados para alívio da dor, quer no pré, quer no pós-operatório. Segundo este estudo, pessoas a quem foram administrados opióides para controlo da dor enquanto aguardavam transplante hepático, apresentam maior necessidade de opióides no pós-operatório, e consequentemente, maior prevalência de dor crónica pós-transplante hepático com impacto na sua sobrevida (Fukazawa et al., 2020).

Especialistas italianos como Belfiore e seus colaboradores (2024), focaram-se nas estratégias de controlo da dor em doentes hepáticos submetidos a transplante, tendo em conta as suas especificidades associadas às alterações hepáticas decorrentes da doença. Este trabalho, vai ao encontro de estudos anteriores, referindo que uma analgesia que evite opióides é aconselhável, quer pelos seus riscos associados a maiores complicações (encefalopatia hepática, depressão respiratória, íleo pós-operatório), quer pela sua associação a desfechos clínicos menos favoráveis. Segundo estes, deve-se privilegiar uma analgesia multimodal, como por exemplo, através de: analgesia loco-regional (epidural), gabapentinóides, cetamina, dexmedetomidina e magnésio (Belfiore et al., 2024). Um estudo observacional retrospectivo de Hausken e colaboradores (2021), com larga escala temporal e grande representatividade amostral, corrobora estes resultados. De acordo com este estudo, a analgesia epidural torácica é eficaz no controlo da dor pós-transplante hepático e não representa risco de complicações por hematoma epidural (Hausken et al., 2021). Em contrapartida, numa revisão sistemática com meta-análise de 2020 sobre a utilização de

3. RESULTS

Of the selected articles, only one, classified as less robust in terms of evidence level, was included because it was considered to present results relevant to the defined research question.

A randomized clinical trial by Wang and colleagues (2021) analyzed the impact of an evidence-based nursing model on post-liver transplant pain control in China. This model consisted of autonomous nursing interventions and was mostly focused on pain prevention, from its systematic assessment to the implementation of antalgic positioning, mobilization, and respiratory training (Wang et al., 2021). The results of this trial were positive, with a decrease in pain, shorter hospital stay, greater satisfaction, and improved sleep in people undergoing liver transplantation (Wang et al., 2021).

A systematic review with meta-analysis by researchers from several countries, such as Sun et al. (2022), on analgesic strategies in the perioperative period of liver transplantation, concluded that pain was significantly reduced when non-opioid drugs (paracetamol, gabapentin, ketamine, tramadol, local anesthetics) were used, with beneficial short- and long-term results (extubation time, ICU length of stay, mortality rate). However, the quality of the evidence used was considered moderate to low, so more studies and reviews are needed (Sun et al., 2022). A retrospective observational study by Fukazawa et al. (2020) also evaluated the use of opioid analgesics in 322 liver transplant recipients, concluding that opioids are frequently used for pain relief, both pre- and post-operatively. According to this study, people who were given opioids for pain control while awaiting liver transplantation have a greater need for opioids post-operatively, and consequently, a higher prevalence of chronic post-liver transplant pain, impacting their survival (Fukazawa et al., 2020).

Italian specialists such as Belfiore and colleagues (2024) focused on pain control strategies in liver transplant patients, taking into account their specificities associated with liver alterations resulting from the disease. This work aligns with previous studies, indicating that opioid-avoidant analgesia is advisable, both because of the risks associated with greater complications (hepatic encephalopathy, respiratory depression, postoperative ileus) and because of their association with less favorable clinical outcomes. According to these studies, multimodal analgesia should be prioritized, for example, through: locoregional analgesia (epidural), gabapentinoids, ketamine, dexmedetomidine, and magnesium (Belfiore et al., 2024). A retrospective observational study by Hausken and colleagues (2021), with a large timescale and large sample representativeness, corroborates these results. According to this study, thoracic epidural analgesia is effective in controlling post-liver transplant pain and does not pose a risk of complications from epidural hematoma (Hausken et al., 2021). Conversely, in a 2020 systematic review with meta-analysis on the use of gabapentin for postoperative pain control, Verret and colleagues reported that there is no clinically significant analgesic effect with the use of these drugs. Similarly, no positive effect was observed in the prevention of chronic pain, unlike adverse effects, which were more frequent (Verret et al., 2020).

Regarding psychological factors associated with the

gabapentinas para o controlo da dor pós-operatória, Verret e colaboradores, referiram que não existe um efeito analgésico clinicamente significativo com a utilização destes fármacos. Da mesma forma, não se verificou um efeito positivo na prevenção da dor crónica ao contrário dos efeitos adversos, que foram mais frequentes (Verret et al., 2020).

Relativamente a fatores psicológicos associados à presença de dor, um estudo observacional conduzido por investigadores e enfermeiros da prática clínica (Sun et al., 2024), verificou que a presença de dor ou dor mal controlada aumenta a prevalência de stress pós-traumático, onde se inclui como sintomas a ansiedade e depressão. Neste seguimento, também um ensaio clínico randomizado (Demir & Saritas, 2020) determinou que intervenções como a massagem nas mãos da pessoa submetida a transplante hepático, tem um efeito positivo, diminuindo a intensidade da dor e os níveis de ansiedade.

As intervenções de enfermagem assumem um papel fulcral, e devem incluir um controlo rigoroso da dor no pós-operatório, intervenções psicológicas personalizadas e uma educação para a saúde com suporte emocional.

4. DISCUSSÃO

De um modo geral, os artigos analisados apontam para a importância de estratégias estruturadas de controlo da dor após transplante hepático — quer farmacológicas (Belfiore et al., 2024; Sun et al., 2022), quer não farmacológicas e autónomas da equipa de enfermagem (Sun et al., 2024; Wang et al., 2021). De uma forma geral, é recomendada uma analgesia multimodal (combinação de técnicas/vias de administração de fármacos com ações distintas), elegendo protocolos de evicção de opióides combinados com outras vias de analgesia mais localizadas (como analgesia epidural ou bloqueio do plano transversal abdominal) e com intervenções não farmacológicas da responsabilidade da equipa de enfermagem (massagem, posicionamento, mobilização e treino respiratório, controlo de ansiedade, educação para a saúde). Estas intervenções, quando aplicadas em conjunto, estão associadas a menores níveis de dor, a extubações mais precoces e à redução do tempo de internamento em Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), ainda que com resultados inconsistentes durante o internamento, mas com tendência para a diminuição da taxa de mortalidade (Sun et al., 2022).

A presente revisão integrativa permite identificar a evidência mais recente, dos últimos cinco anos, relativa ao controlo da dor em pessoas submetidas a transplante hepático, evidenciando o contributo fundamental do enfermeiro. Os resultados confirmam que, o seu papel transpõe a avaliação rigorosa da dor, com a gestão da dor através de uma analgesia multimodal, onde se podem incluir as intervenções não farmacológicas, enquanto uma abordagem mais eficaz, com um impacto significativo para a pessoa (Belfiore et al., 2024; Sun et al., 2024; Sun et al., 2022; Wang et al., 2021; Hausken et al., 2021; Fukazawa et al., 2020).

Também as especificidades da pessoa submetida a transplante hepático exigem um cuidado especial e ajustado à condição desta, por riscos associados ao acumulo de fármacos associados a uma função hepática instável (Belfiore et al., 2024). Neste sentido, o parecer de peritos e outros autores,

presence of pain, an observational study conducted by researchers and nurses in clinical practice (Sun et al., 2024) found that the presence of pain or poorly controlled pain increases the prevalence of post-traumatic stress, which includes symptoms such as anxiety and depression. In this context, a randomized clinical trial (Demir & Saritas, 2020) also determined that interventions such as hand massage in liver transplant recipients have a positive effect, decreasing pain intensity and anxiety levels. Nursing interventions play a crucial role and should include rigorous postoperative pain management, personalized psychological interventions, and health education with emotional support.

4. DISCUSSION

In general, the articles analyzed point to the importance of structured pain control strategies after liver transplantation—both pharmacological (Belfiore et al., 2024; Sun et al., 2022) and non-pharmacological, autonomous strategies of the nursing team (Sun et al., 2024; Wang et al., 2021). Generally, multimodal analgesia (a combination of techniques/routes of drug administration with distinct actions) is recommended, choosing opioid avoidance protocols combined with other more localized analgesic routes (such as epidural analgesia or transversus abdominis plane block) and with non-pharmacological interventions under the responsibility of the nursing team (massage, positioning, mobilization and respiratory training, anxiety control, health education). These interventions, when applied together, are associated with lower pain levels, earlier extubations, and reduced length of stay in Intensive Care Units (ICUs), although with inconsistent results during hospitalization, but with a tendency towards a decrease in the mortality rate (Sun et al., 2022).

This integrative review identifies the most recent evidence, from the last five years, regarding pain control in people undergoing liver transplantation, highlighting the fundamental contribution of nurses. The results confirm that their role goes beyond the rigorous assessment of pain, with pain management through multimodal analgesia, which can include non-pharmacological interventions, as a more effective approach with a significant impact on the individual (Belfiore et al., 2024; Sun et al., 2024; Sun et al., 2022; Wang et al., 2021; Hausken et al., 2021; Fukazawa et al., 2020).

The specific needs of individuals undergoing liver transplantation also require special care tailored to their condition, due to risks associated with drug accumulation and unstable liver function (Belfiore et al., 2024). In this regard, expert opinions and other authors advise minimizing opioid use post-transplant to reduce the risk of respiratory depression, ileus, delirium/encephalopathy, chronic pain, readmissions, and increased mortality (Belfiore et al., 2024; Fukazawa et al., 2020). As alternatives, they propose the use of paracetamol with adjusted doses/intervals, low-dose ketamine, carefully selected gabapentinoids, and local wound infiltration (Belfiore et al., 2024). However, the use of gabapentin is controversial, considering the systematic review that analyzed its effect on post-surgical pain control, which found no advantageous effects in its use and a greater association with the risk of complications to this pharmacological group (gabapentin and pregabalin) (Verret et al., 2020). In addition, these drugs presented more

aconselham a minimizar a utilização de opióides no pós-transplante, diminuindo o risco de depressão respiratória, ileus, *delirium*/encefalopatia, dor crônica, readmissões e maior risco de mortalidade (Belfiore et al., 2024; Fukazawa et al., 2020). Como alternativas, propõem a utilização do paracetamol com dose/intervalo ajustados, cetamina em baixas doses, gabapentinóides cuidadosamente selecionados, e a infiltração local da ferida (Belfiore et al., 2024). No entanto, a utilização das gabapentinas torna-se polêmica, considerando a revisão sistemática que analisou o seu efeito no controlo da dor pós-cirúrgica, não verificando efeitos vantajosos na sua utilização e uma maior associação de risco de complicações a este grupo farmacológico (gabapentina e pregabalina) (Verret et al., 2020). Além disto, estes fármacos apresentaram mais efeitos secundários como tonturas e distúrbios visuais, apesar da diminuição do risco de náuseas e vômitos associado (Verret et al., 2020).

Sublinham ainda que, apesar do risco de coagulopatia nesta tipologia de doentes, deve-se ponderar a analgesia epidural torácica em doentes com perfil hemostático favorável e o bloqueio do abdominal transversal como opção segura e poupadora de opióides, com reduções mensuráveis no consumo de morfina nas primeiras 24–48h (Belfiore et al., 2024; Hausken et al., 2021). Contudo, no estudo de Hausken e colaboradores (2021), a analgesia epidural torácica não representou risco de hematoma epidural ou infeção/ abscesso em pessoas submetidas a transplante hepático sem risco grave de coagulopatia. Além disto, estes elementos reforçam a viabilidade clínica de esquemas multimodais centrados na funcionalidade (tossir, mobilizar, dormir) e na recuperação acelerada (Belfiore et al., 2024; Sun et al., 2024; Sun et al., 2022; Wang et al., 2021). Assim, protocolos multimodais adaptados a transplantados hepáticos devem ser explorados no futuro, pelos resultados positivos obtidos em vários estudos consistentes, apesar de não ficar claro que a utilização desta modalidade terapêutica dispense a utilização de opióides para melhor controlo da dor.

No plano organizacional dos cuidados de enfermagem, a implementação de um modelo de enfermagem baseada na evidência para analgesia pós-transplante — com avaliação sistemática da dor, intervenção psicológica, posicionamento antiálgico, mobilização e treino respiratório — foi associada a uma diminuição da dor, melhoria do padrão de sono, menor tempo de internamento em UCI e menor incidência de complicações gastrointestinais e/ou infecciosas, contribuindo diretamente para um maior conforto e satisfação do doente (Wang et al., 2021). Um posicionamento que promova a redução de pressão sobre a incisão cirúrgica através de um posicionamento *semi-fowler* e com recurso a almofadas que limitem a hiperextensão do tronco/abdómen; a adoção de estratégias facilitadoras da técnica de respiração e de tosse; e uma mobilização precoce — que diminua o risco de trombos, atelectasias e infeções respiratórias e, promova uma recuperação funcional mais precoce com menor dor e rigidez — são intervenções ainda pouco valorizadas nesta tipologia de doentes como recurso de controlo da dor, e que devem ser utilizadas pela equipa de enfermagem pela sua mais-valia.

Embora seja um estudo de pequena escala e delineamento simples, Wang e colaboradores, indicaram que a qualidade do

side effects such as dizziness and visual disturbances, despite the decreased risk of nausea and vomiting associated with them (Verret et al., 2020).

They also emphasize that, despite the risk of coagulopathy in this type of patient, thoracic epidural analgesia should be considered in patients with a favorable hemostatic profile, and transverse abdominal block should be considered as a safe and opioid-sparing option, with measurable reductions in morphine consumption in the first 24–48 hours (Belfiore et al., 2024; Hausken et al., 2021). However, in the study by Hausken et al. (2021), thoracic epidural analgesia did not represent a risk of epidural hematoma or infection/abscess in liver transplant recipients without a serious risk of coagulopathy. Furthermore, these elements reinforce the clinical viability of multimodal regimens focused on functionality (coughing, mobilization, sleep) and accelerated recovery (Belfiore et al., 2024; Sun et al., 2024; Sun et al., 2022; Wang et al., 2021). Thus, multimodal protocols adapted to liver transplant recipients should be explored in the future, given the positive results obtained in several consistent studies, although it is not clear that the use of this therapeutic modality eliminates the need for opioids for better pain control. In the organizational plan of nursing care, the implementation of an evidence-based nursing model for post-transplant analgesia—with systematic pain assessment, psychological intervention, analgesic positioning, mobilization, and respiratory training—was associated with a decrease in pain, improved sleep patterns, shorter ICU stays, and a lower incidence of gastrointestinal and/or infectious complications, directly contributing to greater patient comfort and satisfaction (Wang et al., 2021). This includes positioning that promotes pressure reduction on the surgical incision through a semi-Fowler's position and the use of pillows to limit hyperextension of the trunk/abdomen; and the adoption of strategies that facilitate breathing and coughing techniques. Early mobilization — which reduces the risk of thrombosis, atelectasis, and respiratory infections, and promotes earlier functional recovery with less pain and stiffness — is an intervention that is still undervalued in this type of patient as a pain management tool, and should be used by the nursing team for its added value.

Although it is a small-scale study with a simple design, Wang and colleagues indicated that the quality of the nursing process is crucial for transforming the analgesic strategy into clinical and comfort gains (Wang et al., 2021).

At the level of psychological outcomes, a cross-sectional observational study in 184 recipients identified an association between a higher level of pain and symptoms of post-traumatic stress one year after liver transplantation, with higher anxiety/depression, also associated with post-traumatic stress, while analgesic and psychological interventions showed a protective effect (Sun et al., 2024). The authors explicitly recommend that the nursing team mitigate pain and provide personalized health education and psychological support to reduce the risk of post-traumatic stress. These results associate adequate pain control not only with clinical interventions, but also with the humanization of care and sustained psychological well-being (Sun et al., 2024). It was in this context that a randomized clinical trial, conducted by nurses, sought to understand whether non-pharmacological nursing interventions, such

processo de enfermagem é determinante para transformar a estratégia analgésica em ganhos clínicos e de conforto (Wang et al., 2021).

A nível de resultados psicológicos, um estudo observacional transversal em 184 recetores identificou a associação entre um maior nível de dor e sintomatologia de stress pós-traumático um ano após o transplante hepático, com ansiedade/depressão mais elevadas, também associadas a stress pós-traumático, enquanto que, intervenções analgésicas e psicológicas apresentaram um efeito protetor (Sun et al., 2024). Os autores recomendam explicitamente que a equipa de enfermagem mitigue a dor e proporcione educação para a saúde e apoio psicológico personalizados para reduzir risco de stress pós-traumático. Estes resultados associam o controlo adequado da dor não só a intervenções clínicas, mas também à humanização dos cuidados e ao bem-estar psicológico sustentado (Sun et al., 2024). Foi neste sentido que um ensaio clínico randomizado, conduzido por enfermeiros, procurou perceber se através de intervenções de enfermagem não farmacológicas, como a massagem das mãos, seria possível reduzir o efeito da dor, mas também nos níveis de ansiedade da pessoa submetida a transplante hepático. Os resultados deste estudo demonstraram que uma massagem nas mãos – através de pequenos movimentos circulares no tecido mole e muscular – com uma duração de 10 minutos, duas a três vezes, nas 24h após cirurgia, alterou a sensação de dor na matriz neural e melhorou a relação enfermeiro-doente com influência direta nos níveis de ansiedade em apenas 30 minutos após a massagem (Demir & Saritas, 2020).

Como resposta à questão de investigação, considera-se que as intervenções de enfermagem com melhor efeito na gestão da dor na pessoa submetida a transplante hepático, são do âmbito interdisciplinar (farmacológicas) e autónomo, como: a administração (segura) da terapêutica prescrita, a avaliação sistemática da dor com recurso a escalas validadas, a monitorização de efeitos adversos e a aplicação de medidas não farmacológicas (massagem terapêutica, posicionamento antiálgico, a mobilização precoce e a higiene do sono), de acordo com a literatura encontrada (Belfiore et al., 2024; Sun et al., 2024; Wang et al., 2021; Demir & Saritas, 2020).

Considera-se que estas intervenções têm como alvo uma população muito frágil, quer clínica quer emocionalmente, pela condição patológica que acarreta e pela adaptação que esta terapêutica exige. Neste sentido, a dor não é apenas um fenómeno fisiológico, mas também psicológico e social. Uma influência negativa pode resultar em sofrimento, ansiedade, memórias traumáticas e até stress pós-traumático, podendo contribuir para a síndrome de pós internamento em cuidados intensivos (SPICI) (Sun et al., 2024). Assim, a intervenção de enfermagem deve integrar ainda estratégias que indiretamente podem influenciar a gestão da dor, entre as quais: comunicacionais, suporte emocional e promoção da confiança, assegurando uma abordagem holística e centrada na pessoa. A sua proximidade com a pessoa e família confere-lhe ainda uma função educativa essencial, facilitando a adesão ao regime terapêutico e a corresponsabilização no processo de autocuidado (Sun et al., 2024), contribuindo diretamente para uma melhor gestão da dor numa fase mais tardia, com uma recuperação mais eficaz e melhor qualidade de vida.

as hand massage, could reduce the effect of pain, but also the anxiety levels of people undergoing liver transplantation. The results of this study demonstrated that a hand massage – through small circular movements on soft and muscular tissue – lasting 10 minutes, two to three times, in the 24 hours after surgery, altered the sensation of pain in the neural matrix and improved the nurse-patient relationship, directly influencing anxiety levels in just 30 minutes after the massage (Demir & Saritas, 2020).

In response to the research question, it is considered that the nursing interventions with the best effect on pain management in liver transplant recipients are both interdisciplinary (pharmacological) and autonomous, such as: the (safe) administration of prescribed therapy, systematic pain assessment using validated scales, monitoring of adverse effects, and the application of non-pharmacological measures (therapeutic massage, analgesic positioning, early mobilization, and sleep hygiene), according to the literature found (Belfiore et al., 2024; Sun et al., 2024; Wang et al., 2021; Demir & Saritas, 2020).

These interventions are considered to target a very fragile population, both clinically and emotionally, due to the pathological condition it entails and the adaptation that this therapy requires. In this sense, pain is not only a physiological phenomenon, but also a psychological and social one. A negative influence can result in suffering, anxiety, traumatic memories, and even post-traumatic stress, potentially contributing to post-intensive care syndrome (PICS) (Sun et al., 2024). Thus, nursing intervention should also integrate strategies that can indirectly influence pain management, including: communication, emotional support, and confidence building, ensuring a holistic and person-centered approach. Their proximity to the individual and family also gives them an essential educational function, facilitating adherence to the therapeutic regimen and co-responsibility in the self-care process (Sun et al., 2024), directly contributing to better pain management at a later stage, with more effective recovery and improved quality of life.

The limitations of this review lie in the availability of articles related to the specific topic and population in question, especially those with robust evidence and results applicable to nursing practice. However, it is considered that despite the small number of final articles available for analysis, they all complement each other due to their diverse content and relevance to this study.

Thus, despite the consistency indicating benefit, the strength of the evidence is generally moderate, and more studies are needed to prove the direct relationship between the interventions mentioned, the reduction/control of pain in liver transplant recipients, and their direct influence on quality indicators, including the rate of complications and/or recovery and quality of life.

5. CONCLUSIONS

The implementation of multimodal protocols, such as the use of non-opioid drugs and epidural analgesia, demonstrates benefits for pain control in liver transplant recipients.

The combination of pharmacological and non-

As limitações desta revisão são do âmbito da disponibilidade de artigos referentes ao tema e população específica em questão, sobretudo de nível de evidência robusta e que apresentem resultados para a prática de Enfermagem. No entanto, considera-se que apesar de um reduzido número de artigos finais disponíveis para análise, todos se complementam pelo seu conteúdo diversificado e com relevância para este estudo.

Assim, apesar da coerência que indica benefício, a força da evidência é, em geral, moderada, sendo necessários mais estudos que comprovem a relação direta entre as intervenções mencionadas, a diminuição/controlo da dor da pessoa submetida a transplante hepático e, a sua influência direta em indicadores de qualidade, entre os quais a taxa de complicações e/ou recuperação e qualidade de vida.

5. CONCLUSÕES

A implementação de protocolos multimodais, como a utilização de fármacos não opióides e analgesia epidural demonstram benefícios para o controlo da dor da pessoa submetida a transplante hepático.

A associação de intervenções farmacológicas e não farmacológicas, deve ser prioritária na prática de enfermagem para melhores resultados clínicos e qualidade de vida da pessoa. A enfermagem desempenha um papel determinante na operacionalização destas estratégias, integrando ciência e técnica, revestidas por cuidados humanizados. Algumas estratégias como a avaliação rigorosa da dor, a massagem terapêutica, o posicionamento antiálgico, e a mobilização precoce, parecem ter um benefício comprovado para a pessoa, quer a nível físico, quer a nível psicológico. Mais investigação é necessária para robustecer a evidência e consolidar recomendações específicas para a prática de enfermagem em contexto de transplante hepático.

CONFLITO DE INTERESSES

Não existem conflitos de interesse nem financiamento deste artigo.

CONTRIBUIÇÕES AUTORAIS

Conceptualização: João Silva; Metodologia: João Silva e Diana Sousa; Análise formal: Diana Sousa; Investigação: João Silva e Diana; Redação - preparação do draft original: João Silva; Redação - revisão e edição: Diana Sousa. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- Belfiore J, Niccolini N, Fleissner Z, Chadha R, Biancofiore G. Pain management in liver transplant recipients: A focus on current and future strategies. *Minerva Anestesiologia* **90**(5), 452–461, 2024;
- Chuttani P, Sindwani G, Pamecha V, Mohapatra N, Arora M. Impact of liver disease severity on postoperative pain after living donor liver transplantation: A prospective observational study. *Clinical Transplantation and Research* **39**(2), 142–149, 2025;
- Demir B, Saritas S. Effect of hand massage on pain and anxiety in patients after liver transplantation: A randomised controlled trial. *Complementary Therapies in Clinical Practice* **39**: 101152, 2020;
- Dogan R, Oltuluoglu H, Bayrakçi E. Pain Experiences and Coping Methods of Living Liver Donors Experiencing Chronic Pain After Surgery: Qualitative Study. *Pain Management Nursing* **26**(3), e311–e317, 2024;
- Duarte S, Bhutani S, Ngo T, Ganguli R, Beduschi T, et al. Comparative analysis of liver transplants from donation after circulatory death using abdominal normothermic regional perfusion versus rapid recovery: A single center experience. *American Journal of Transplantation* **25**(1): S18, 2025;
- Fukazawa K, Rodriguez PJ, Fong CT, Gologorsky E. Perioperative Opioid Use and Chronic Post-Surgical Pain after Liver Transplantation: A Single Center

pharmacological interventions should be prioritized in nursing practice for better clinical outcomes and quality of life. Nursing plays a key role in operationalizing these strategies, integrating science and technique, underpinned by humanized care. Some strategies, such as rigorous pain assessment, therapeutic massage, analgesic positioning, and early mobilization, appear to have proven benefits for the individual, both physically and psychologically. More research is needed to strengthen the evidence and consolidate specific recommendations for nursing practice in the context of liver transplantation.

CONFLICT OF INTEREST

There are no conflicts of interest or funding for this article.

AUTHORIAL CONTRIBUTIONS

Conceptualization: João Silva; Methodology: João Silva and Diana Sousa; Formal analysis: Diana Sousa; Research: João Silva and Diana Sousa; Writing - preparation of the original draft: João Silva; Writing - revision and editing: Diana Sousa. All authors read and agreed with the published version of the manuscript.

- Observational Study. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* **34**(7): 1815–1821, 2020;
- Hausken J, Haugaa H, Hagness M, Line PD, Melum E, Tønnessen TI. Thoracic Epidural Analgesia for Postoperative Pain Management in Liver Transplantation: A 10-year Study on 685 Liver Transplant Recipients. *Transplantation Direct* **7**(2): e648, 2021;
- Horn R, Hendrix JM, Kramer J. Postoperative Pain Control. *StatPearls Publishing*, 2025;
- IPST. Relatório: Atividade de Colheita e Transplantação de Órgãos e Tecidos e Células e do Sistema Nacional de Biovigilância (2024). *Instituto Português do Sangue e Transplantação: Coordenação Nacional da Transplantação*. Disponível em: http://efaidnbmnnnibpcaajpcglclefindmkaj/https://ipst.pt/files/TRANSPLANTACAO/BIOVIGILANCIA/ReltSistemaNacionalBiovigilancia_2024.pdf, consultado em 25-06-2025, 2025.
- Jing W, Bi C, Fang Z, Qian C, Chen J, Yu J, Tian C, Ye M, Liu Z. Neuropsychiatric sequelae after liver transplantation and their possible mechanism via the microbiota-gut-liver-brain axis. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **163**: 114855, 2023;
- Kaur S, Henthron P, Hendrickse A. Pain management for liver transplant recipients. *Curr Opin Organ Transplant* **28**(6): 397-403, 2023;
- Page M, McKenzie J, Bossuyt P, Boutron I, Hoffmann T, Mulrow C, Shamseer L, Tetzlaff J, Akl E, Brennan S, Chou R, Glanville J, Grimshaw J, Hróbjartsson A, Lalu M, Li T, Loder E, Mayo-Wilson E, McDonald S, et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* **372**: 71, 2021;
- Qu Y, Xu H, Guo X, Zhang C, Xu B. Effectiveness of a nurse-led pain management model following TACE: A retrospective analysis. *Scientific Reports* **15**(1): 27895, 2025;
- Sun LY, Gitman M, Malik A, Terry P, Spiro M, Raptis D, Ramsay M, Working Group. Optimal management of perioperative analgesia regarding immediate and short-term outcomes after liver transplantation – A systematic review, meta-analysis and expert panel recommendations. *Clinical Transplant* **36**(10): 14640, 2022;
- Sun XQ, Xu Y, Wu XL, Zhi JJ, Gu YM. Factors Influencing Stress Disorders in Intensive Care Unit (ICU) Patients After Liver Transplantation: A Cross-Sectional Study. *Annals of Transplantation* **29**: e944320, 2024;
- Verret M, Lauzier F, Zarychanski R, Perron C, Savard X, Pinard AM, Leblanc G, Cossi MJ, Neveu X, Turgeon A, Canadian Perioperative Anesthesia Clinical Trials (PACT) Group. Perioperative Use of Gabapentinoids for the Management of Postoperative Acute Pain. *Anesthesiology* **133**(2): 265–279, 2020;
- Wang H, An B, Zhou G, Ma D, Xin L. Study on the relieving effect of evidence-based nursing model on pain nursing of patients after liver transplantation. *Minerva Medica* **112**(5): 676–677, 2021;

Efeitos das Intervenções Nutricionais na Sintomatologia da Perturbação do Espectro do Autismo: Revisão Sistemática da Literatura

Effects of Nutritional Interventions on Autism Spectrum Disorder Symptomatology: A Systematic Literature Review

Cibel Adrião¹, Ana Maria Pereira^{2*} 

¹Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

²Research Center for Active Living and Wellbeing (LiveWell), Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

*Autor correspondente/Corresponding author: amgpereira@ipb.pt

Recebido/Received: 22-01-2026; Revisto/Revised: 09-04-2026; Aceite/Accepted: 10-04-2026

Resumo

Introdução: A Perturbação do Espectro do Autismo (PEA) é uma condição do neurodesenvolvimento caracterizada por alterações persistentes na comunicação, no comportamento e na interação social. Embora a etiologia seja multifatorial, tem aumentado o interesse em compreender o papel da nutrição como intervenção complementar capaz de modular sintomas comportamentais e gastrointestinais frequentemente associados à PEA. **Objetivos:** Avaliar o efeito de intervenções nutricionais na sintomatologia de indivíduos diagnosticados com PEA. **Material e Métodos:** A pesquisa foi realizada nas bases *PubMed*, *Scopus* e *Web of Science*. Foram incluídos 11 estudos que analisaram intervenções nutricionais em crianças e adolescentes com PEA, abrangendo suplementação e modificações dietéticas. **Resultados:** A maioria dos estudos, 72,73% (n = 8), investigou suplementos como vitamina D, ómega-3, ácido folínico, sulforafano, prebióticos e probióticos. As intervenções dietéticas — dieta baixa em FODMAPs, dieta sem glúten e dieta sem glúten e/ou sem caseína — foram avaliadas em 27,27% (n = 3) dos artigos. A dieta baixa em FODMAPs demonstrou melhorias significativas em sintomas gastrointestinais e em alguns comportamentos associados. Já as dietas sem glúten e/ou sem caseína apresentaram resultados inconsistentes. As intervenções com suplementos evidenciaram reduções em irritabilidade e hiperatividade, além de melhorias na comunicação social e na saúde intestinal, embora com variação entre estudos. **Conclusões:** As intervenções nutricionais mostram potencial para influenciar positivamente a sintomatologia da PEA. Contudo, a heterogeneidade metodológica e o número limitado de estudos exigem investigação adicional para confirmar a eficácia destas abordagens e identificar os subgrupos que podem beneficiar de forma mais consistente.

Palavras-chave: Perturbação do Espectro do Autismo, Nutrição, Dieta, Suplementos, Sintomas.

Abstract

Introduction: Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental condition characterized by persistent alterations in communication, behavior, and social interaction. Although its etiology is multifactorial and complex, there is growing scientific interest in understanding the role of nutrition as a complementary intervention capable of modulating behavioral and gastrointestinal symptoms commonly associated with ASD. **Objectives:** To evaluate the effect of nutritional interventions on the symptomatology of individuals diagnosed with Autism Spectrum Disorder. **Materials and Methods:** A literature search was conducted in *PubMed*, *Scopus*, and *Web of Science*. Eleven studies investigating nutritional interventions in children and adolescents with ASD were included, encompassing both dietary supplementation and dietary modifications. **Results:** Most studies, 72,73% (n = 8), examined the effects of nutritional supplements such as vitamin D, omega-3, folic acid, sulforaphane, prebiotics, and probiotics. Dietary interventions — including low-FODMAP diets, gluten-free diets, and gluten-free and/or casein-free diets — were evaluated in 27,27% (n = 3) of the articles. The low-FODMAP diet demonstrated significant improvements in gastrointestinal symptoms and some behavioral outcomes, whereas gluten-free and/or casein-free diets produced inconsistent results. Supplement-based interventions showed reductions in irritability and hyperactivity, improvements in social interaction and communication, and benefits for intestinal health, although findings varied across studies. **Conclusions:** Nutritional interventions may help improve ASD symptoms, but limited and heterogeneous studies mean more research is needed to confirm their effectiveness and identify who benefits most.

Keywords: Autism spectrum disorder, Nutrition, Diet, Supplementation, Symptoms.

1. INTRODUÇÃO

A Perturbação do Espectro do Autismo (PEA) é uma condição caracterizada por défices persistentes na comunicação e interação social, associados a padrões de comportamento repetitivos, restritivos e inflexíveis, cuja expressão é desproporcional à idade e ao contexto sociocultural do indivíduo (Campisi et al. 2018; Organização Mundial da Saúde 2024). Estas alterações resultam de perturbações precoces em circuitos neurais envolvidos na socialidade, processamento sensorial, flexibilidade cognitiva e regulação comportamental, refletindo a natureza multifatorial e heterogénea da PEA (Lord et al; 2020).

Embora o início seja tipicamente identificado na infância, a apresentação clínica pode tornar-se mais evidente ao longo do desenvolvimento, sobretudo quando as exigências sociais, comunicacionais e adaptativas ultrapassam as capacidades individuais (Campisi et al. 2018; Lord et al. 2018). Assim, a PEA manifesta-se como um *continuum* de necessidades que variam em intensidade e impacto funcional, influenciadas por fatores genéticos, neurobiológicos e ambientais, reforçando a importância de uma avaliação multidimensional e longitudinal (Lord et al. 2018). Esses défices repercutem-se no funcionamento pessoal, familiar, social, educacional e ocupacional, manifestando-se de forma consistente em múltiplos contextos do quotidiano (Yu et al., 2024; Organização Mundial da Saúde, 2024). A expressão clínica varia em função das características do ambiente social e educacional, refletindo diferenças nos níveis de funcionamento intelectual, nas competências linguísticas e na capacidade de adaptação (Qin et al., 2024; Posar & Visconti, 2023). Esta heterogeneidade confirma a PEA como uma condição dimensional, cujo impacto funcional resulta da interação entre fatores individuais e as exigências contextuais, exigindo abordagens de avaliação e intervenção sensíveis ao perfil de cada pessoa (Yu et al., 2024).

Em Portugal, um estudo publicado em 2005 estimou que a prevalência da PEA era de aproximadamente 1 em cada 1.000 crianças em idade escolar (Oliveira et al., 2007). Contudo, investigações mais recentes apontam para valores substancialmente superiores, em linha com a tendência global de aumento da identificação e diagnóstico da PEA. Estudos internacionais publicados entre 2021 e 2024 estimam prevalências entre 1% e 2,8% da população infantil, refletindo maior sensibilidade diagnóstica, melhoria dos sistemas de vigilância e ampliação dos critérios clínicos (Maenner et al., 2023; Zeidan et al., 2022; Salari et al., 2022).

O aumento da prevalência da PEA nas últimas duas décadas pode ser atribuída a uma combinação de fatores, como maior frequência de triagem em crianças e adultos, a melhoria dos critérios de diagnósticos e o desenvolvimento de escalas comportamentais e neuropsicológicas mais precisas, o que tem contribuído significativamente para a identificação de casos de PEA (Sharma et al. 2018; Qin et al. 2024).

O diagnóstico é um processo complexo que exige a utilização de instrumentos padronizados e validados, capazes de captar a heterogeneidade clínica e garantir uma avaliação rigorosa para orientar intervenções adequadas. Entre as ferramentas amplamente utilizadas destaca-se a *Developmental, Dimensional and Diagnostic Interview* (3Di),

1. INTRODUCTION

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a condition characterized by persistent deficits in social communication and interaction, associated with repetitive, restrictive, and inflexible patterns of behavior, whose expression is disproportionate to the individual's age and sociocultural context (Campisi et al. 2018; World Health Organization 2024). These alterations result from early disruptions in neural circuits involved in social functioning, sensory processing, cognitive flexibility, and behavioral regulation, reflecting the multifactorial and heterogeneous nature of ASD (Lord et al; 2020).

Although onset is typically identified in childhood, clinical presentation may become more evident over the course of development, particularly when social, communicative, and adaptive demands exceed individual capacities (Campisi et al. 2018; Lord et al. 2018). Thus, ASD manifests as a continuum of needs that vary in intensity and functional impact, influenced by genetic, neurobiological, and environmental factors, reinforcing the importance of multidimensional and longitudinal assessment (Lord et al. 2018). These deficits affect personal, family, social, educational, and occupational functioning, consistently manifesting across multiple contexts of daily life (Yu et al., 2024; World Health Organization, 2024). Clinical expression varies according to characteristics of the social and educational environment, reflecting differences in intellectual functioning, language abilities, and adaptive capacity (Qin et al., 2024; Posar & Visconti, 2023). This heterogeneity supports the conceptualization of ASD as a dimensional condition whose functional impact results from the interaction between individual factors and contextual demands, requiring assessment and intervention approaches tailored to each individual profile (Yu et al., 2024).

In Portugal, a study published in 2005 estimated the prevalence of ASD to be approximately 1 in 1.000 school-age children (Oliveira et al., 2007). However, more recent research indicates substantially higher values, consistent with the global trend of increased ASD identification and diagnosis. International studies published between 2021 and 2024 estimate prevalence rates ranging from 1% to 2,8% in the pediatric population, reflecting improved diagnostic sensitivity, enhanced surveillance systems, and broader clinical criteria (Maenner et al., 2023; Zeidan et al., 2022; Salari et al., 2022).

The increase in ASD prevalence over the past two decades may be attributed to a combination of factors, including more frequent screening in children and adults, improved diagnostic criteria, and the development of more precise behavioral and neuropsychological assessment scales, all of which have significantly contributed to case identification (Sharma et al. 2018; Qin et al. 2024).

Diagnosis is a complex process requiring the use of standardized and validated instruments capable of capturing clinical heterogeneity and ensuring accurate evaluation to guide appropriate interventions. Among the widely used tools is the *Developmental, Dimensional and Diagnostic Interview* (3Di), which enables structured assessment of core ASD symptoms and potential comorbidities through detailed

que permite avaliar de forma estruturada os sintomas nucleares da PEA e possíveis comorbilidades através de entrevistas detalhadas com pais e cuidadores (Hayes et al., 2018). Outra medida relevante é a *Childhood Autism Rating Scale* (CARS), frequentemente empregue para diferenciar a PEA de outros transtornos do neurodesenvolvimento, avaliando a gravidade dos sintomas em crianças e adolescentes (Sharma et al., 2018). Em conjunto, estes instrumentos contribuem para uma abordagem multidimensional, permitindo integrar informação comportamental, desenvolvimental e contextual, essencial para um diagnóstico preciso num quadro tão heterogêneo como a PEA.

A elevada taxa de comorbidades em indivíduos com PEA constitui um elemento central para o diagnóstico, a formulação clínica e o planeamento terapêutico. Estima-se que cerca de três quartos das crianças com PEA apresentem simultaneamente outras condições médicas, psiquiátricas ou neurológicas (Sharma et al., 2018; Loyacono et al., 2020). Estudos mais recentes reforçam esta tendência, indicando que entre 70% e 95% das pessoas com PEA apresentam pelo menos uma comorbidade, e cerca de 40% a 60% apresentam duas ou mais (Lugo-Marín et al., 2019). Essas comorbidades interferem negativamente na saúde das pessoas, elevando o custo e a complexidade dos cuidados e maiores exigências às famílias dos pacientes. Entre as comorbidades mais frequentes estão o Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade, ansiedade, depressão, transtorno bipolar, epilepsia, esquizofrenia, distúrbios do sono, distúrbios gastrointestinais, doença inflamatória intestinal, neuroinflamação, distúrbios imunológicos e problemas sensoriais (Hyman et al. 2020).

Estudos indicam que pessoas com autismo podem apresentar carências de nutrientes essenciais, incluindo vitamina B6, magnésio e ácidos gordos ómega-3, nutrientes envolvidos em vias metabólicas relacionadas com neurotransmissão, plasticidade neuronal e modulação inflamatória. A suplementação destes nutrientes tem sido associada a melhorias em funções cognitivas, comportamentais e emocionais em alguns indivíduos, embora os resultados variem consoante o perfil clínico e nutricional (Adams et al., 2011; Mazahery et al., 2019).

Além disso, intervenções dietéticas como a dieta isenta de glúten e caseína têm sido estudadas pela sua potencial capacidade de reduzir sintomas gastrointestinais — frequentes na PEA — e, conseqüentemente, melhorar irritabilidade, comportamento e bem-estar geral. O estudo de Whiteley et al. (2013) demonstrou que a remoção destes componentes pode beneficiar subgrupos específicos, sobretudo aqueles com hipersensibilidade gastrointestinal ou alterações na permeabilidade intestinal.

A literatura também destaca o papel da inflamação sistémica e do *stress* oxidativo na fisiopatologia desta doença, sugerindo que estes processos podem contribuir para o agravamento dos sintomas comportamentais e cognitivos (Ghanizadeh, 2010; Manivasagam et al., 2020). Assim, padrões alimentares ricos em antioxidantes — como frutas e hortícolas coloridos, frutos secos, sementes e alimentos ricos em polifenóis — podem ajudar a modular a inflamação e reduzir o dano oxidativo. Estudos recentes reforçam que dietas anti-

interviews with parents and caregivers (Hayes et al., 2018). Another relevant measure is the *Childhood Autism Rating Scale* (CARS), frequently used to differentiate ASD from other neurodevelopmental disorders by assessing symptom severity in children and adolescents (Sharma et al., 2018). Together, these instruments support a multidimensional approach by integrating behavioral, developmental, and contextual information, which is essential for accurate diagnosis in a highly heterogeneous condition such as ASD.

The high rate of comorbidities in individuals with ASD is a central element in diagnosis, clinical formulation, and therapeutic planning. It is estimated that approximately three-quarters of children with ASD present with co-occurring medical, psychiatric, or neurological conditions (Sharma et al., 2018; Loyacono et al., 2020). More recent studies reinforce this trend, indicating that between 70% and 95% of individuals with ASD have at least one comorbidity, and approximately 40% to 60% present with two or more (Lugo-Marín et al., 2019). These comorbidities negatively impact health, increasing the cost and complexity of care, as well as the burden on families. The most frequent comorbidities include attention-deficit/hyperactivity disorder, anxiety, depression, bipolar disorder, epilepsy, schizophrenia, sleep disorders, gastrointestinal disorders, inflammatory bowel disease, neuroinflammation, immune dysfunction, and sensory processing issues (Hyman et al. 2020).

Studies indicate that individuals with ASD may present deficiencies in essential micronutrients, including vitamin B6, magnesium, and omega-3 fatty acids – nutrients involved in metabolic pathways related to neurotransmission, neuroplasticity, and inflammatory modulation. Supplementation with these nutrients has been associated with improvements in cognitive, behavioral, and emotional functions in some individuals, although results vary depending on clinical and nutritional profiles (Adams et al., 2011; Mazahery et al., 2019).

In addition, dietary interventions such as gluten-free and casein-free diets have been investigated for their potential to reduce gastrointestinal symptoms — common in ASD — and consequently improve irritability, behavior, and overall well-being. The study by Whiteley et al. (2013) demonstrated that the removal of these components may benefit specific subgroups, particularly those with gastrointestinal hypersensitivity or altered intestinal permeability.

The literature also highlights the role of systemic inflammation and oxidative stress in the pathophysiology of ASD, suggesting that these processes may contribute to the worsening of behavioral and cognitive symptoms (Ghanizadeh, 2010; Manivasagam et al., 2020). Thus, dietary patterns rich in antioxidants – such as fruits, vegetables, nuts, seeds, and polyphenol-rich foods – may help modulate inflammation and reduce oxidative damage. Recent studies further indicate that anti-inflammatory diets, such as the Mediterranean diet, are associated with improvements in behavior, sleep, and gastrointestinal health in children with ASD (Sathe et al., 2017).

The gut microbiota plays essential roles in digestion, immune function, and overall health (Li et al. 2017). In

inflamatórias, como a dieta mediterrânea, estão associadas a melhorias no comportamento, sono e saúde gastrointestinal em crianças com PEA (Sathe et al., 2017).

A microbiota intestinal tem funções essenciais na digestão, no sistema imunológico e na saúde global (Li et al. 2017). Em indivíduos com PEA, observa-se frequentemente um desequilíbrio na microbiota, que pode resultar em problemas gastrointestinais, como obstipação, diarreia e outros distúrbios do trato digestivo. Esse desequilíbrio aumenta a permeabilidade intestinal, permitindo que substâncias inflamatórias atinjam o cérebro e causem neuroinflamação, exacerbando os sintomas (Strati et al. 2017; Rudzki & Szulc 2018; Fetissov et al. 2019). Além disso, a microbiota intestinal desempenha um papel central na regulação do eixo intestino-cérebro, sendo responsável pela produção de neurotransmissores, neuromoduladores e metabólitos bioativos — como serotonina, dopamina, *Gamma-aminobutyric acid* (GABA), triptofano e ácidos gordos de cadeia curta — que influenciam diretamente o comportamento, a cognição, a resposta ao *stress* e a modulação emocional (Vuong & Hsiao, 2017). Evidências recentes demonstram que alterações na composição, diversidade e funcionalidade da microbiota podem afetar a permeabilidade intestinal, a sinalização imunitária e processos neuroinflamatórios, contribuindo para a expressão e intensidade de sintomas associados à PEA (Cryan et al., 2020; Bundgaard-Nielsen et al., 2020). Assim, a microbiota intestinal emerge como um alvo promissor para intervenções nutricionais e terapêuticas, dada a sua capacidade de influenciar circuitos neurais e processos cognitivos através de vias metabólicas, imunoendócrinas e neuroquímicas.

As intervenções nutricionais, incluindo a suplementação com probióticos, a adoção de dietas específicas e o uso de vitaminas e sais minerais, têm sido amplamente investigadas como estratégias complementares para atenuar os sintomas associados (Mierau & Neumeyer, 2019). Estas abordagens partem da evidência de que muitos indivíduos com PEA apresentam alterações gastrointestinais, desequilíbrios na microbiota intestinal, défices nutricionais e maior vulnerabilidade a processos inflamatórios e oxidativos — fatores que podem influenciar o comportamento, a cognição e o bem-estar geral.

A suplementação com probióticos tem demonstrado potencial para modular a microbiota intestinal, reduzir sintomas gastrointestinais e melhorar aspectos comportamentais relacionados com ansiedade, irritabilidade e regulação emocional, através da ação no eixo intestino-cérebro (Shaaban et al., 2018). Paralelamente, dietas específicas — como dietas isentas de glúten e caseína, dietas anti-inflamatórias ou padrões alimentares ricos em antioxidantes — têm sido estudadas pela sua capacidade de reduzir inflamação sistêmica, melhorar o conforto gastrointestinal e, em alguns casos, contribuir para melhorias comportamentais (Sathe et al., 2017; Whiteley et al., 2013). A suplementação de nutrientes, como vitaminas do complexo B, vitamina D, magnésio, zinco e ácidos gordos ômega-3, também tem sido explorada, dada a sua relevância para a neurotransmissão, plasticidade neuronal e modulação imunitária. Ensaios clínicos recentes sugerem que intervenções nutricionais personalizadas, baseadas no

indivíduos com ASD, um desequilíbrio na microbiota intestinal é frequentemente observado, o que pode resultar em problemas gastrointestinais, como constipação, diarreia, e outros distúrbios digestivos. Este desequilíbrio pode aumentar a permeabilidade intestinal, permitindo que substâncias inflamatórias alcancem o cérebro e induzam neuroinflamação, exacerbando os sintomas (Strati et al. 2017; Rudzki & Szulc 2018; Fetissov et al. 2019). Além disso, a microbiota intestinal desempenha um papel central na regulação do eixo intestino-cérebro, sendo responsável pela produção de neurotransmissores, neuromoduladores, e metabólitos bioativos — como serotonina, dopamina, *gamma-aminobutyric acid* (GABA), triptofano, e ácidos gordos de cadeia curta — que influenciam diretamente o comportamento, a cognição, a resposta ao *stress*, e a regulação emocional (Vuong & Hsiao, 2017). Evidências recentes demonstram que alterações na composição, diversidade, e funcionalidade da microbiota podem afetar a permeabilidade intestinal, a sinalização imunitária, e processos neuroinflamatórios, contribuindo para a expressão e severidade de sintomas relacionados à ASD — relacionados sintomas (Cryan et al., 2020; Bundgaard-Nielsen et al., 2020). Assim, a microbiota intestinal emerge como um alvo promissor para intervenções nutricionais e terapêuticas, dada a sua capacidade de influenciar circuitos neurais e processos cognitivos através de vias metabólicas, imunoendócrinas, e neuroquímicas.

Intervenções nutricionais, incluindo a suplementação com probióticos, dietas específicas, e o uso de vitaminas e minerais, têm sido amplamente investigadas como estratégias complementares para aliviar sintomas associados (Mierau & Neumeyer, 2019). Estas abordagens são baseadas em evidências de que muitos indivíduos com ASD apresentam alterações gastrointestinais, desequilíbrios na microbiota intestinal, deficiências nutricionais, e maior vulnerabilidade a processos inflamatórios e oxidativos — fatores que podem influenciar o comportamento, a cognição, e o bem-estar geral.

A suplementação com probióticos tem demonstrado potencial para modular a microbiota intestinal, reduzir sintomas gastrointestinais e melhorar aspectos comportamentais relacionados com ansiedade, irritabilidade, e regulação emocional, através da ação no eixo intestino-cérebro (Shaaban et al., 2018). Paralelamente, dietas específicas — como dietas isentas de glúten e caseína, dietas anti-inflamatórias ou padrões alimentares ricos em antioxidantes — têm sido estudadas pela sua capacidade de reduzir inflamação sistêmica, melhorar o conforto gastrointestinal e, em alguns casos, contribuir para melhorias comportamentais (Sathe et al., 2017; Whiteley et al., 2013). A suplementação de nutrientes, como vitaminas do complexo B, vitamina D, magnésio, zinco, e ácidos gordos ômega-3, também tem sido explorada, dada a sua relevância para a neurotransmissão, plasticidade neuronal, e modulação imunitária. Ensaios clínicos recentes sugerem que intervenções nutricionais personalizadas, baseadas no

Explorando a relação entre nutrição e sintomas de ASD, esta revisão destaca intervenções dietéticas que podem contribuir para um melhor gerenciamento dos sintomas. Além disso, a implementação de estratégias nutricionais apropriadas pode promover um equilíbrio físico e mental, impactando positivamente o bem-estar geral.

perfil clínico, metabólico e gastrointestinal, podem constituir um complemento valioso às abordagens terapêuticas tradicionais (Mazahery et al., 2019).

Ao explorar a relação entre a nutrição e os sintomas da PEA, a presente revisão pode destacar intervenções dietéticas que contribuam para uma melhor gestão dos sintomas. Além disso, a implementação de estratégias nutricionais adequadas pode promover uma saúde física e mental mais equilibrada, impactando positivamente o bem-estar geral destes indivíduos.

O objetivo da presente revisão é avaliar o impacto de intervenções nutricionais na sintomatologia de indivíduos diagnosticados com PEA.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo consiste numa revisão sistemática da literatura sobre os efeitos de intervenções nutricionais na sintomatologia da Perturbação do Espectro do Autismo realizado conforme os critérios *Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (Page et al. 2021).

A questão da pesquisa foi definida de acordo com os critérios PICO (Barrington et al. 2024). As intervenções nutricionais tem efeito na sintomatologia da Perturbação do Espectro do Autismo?

- P (População): crianças e adolescentes diagnosticados com PEA
- I (Intervenção): alteração da dieta ou suplementação nutricional
- C (Comparação): nenhum tratamento ou placebo
- O (Resultados): alterações dos sintomas característicos do PEA

A pesquisa foi realizada nas bases de dados PubMed, *Web of Science* e *Scopus*, considerando publicações dos últimos anos (2019 – 2024), utilizando a seguinte combinação de descritores e operadores booleanos: (“Autism Spectrum Disorder” OR “Autistic Disorder”) AND (Nutrition OR supplements OR “Dietary Supplements” OR “Feeding Behavior”).

Foram incluídos estudos primários (ensaios clínicos, coorte e casos e controlo), publicados em inglês e/ou português. A população-alvo foram crianças e adolescentes diagnosticados com PEA. Foram incluídos estudos que analisaram intervenções nutricionais, como dieta e suplementos, e o seu impacto na sintomatologia da PEA. Foram excluídos artigos que não focassem em intervenções nutricionais, e estudos que incluíam indivíduos com diagnósticos múltiplos.

A pesquisa identificou 341 artigos, dos quais 163 foram excluídos por duplicidade ou falta de relevância com base no título, resultando em 178 artigos para a etapa seguinte. Após a leitura dos resumos, 117 artigos foram excluídos. Além disso, dos 61 artigos restantes, 11 atenderam aos critérios de elegibilidade, sendo incluídos nesta revisão. O processo de seleção dos artigos está ilustrado no fluxograma da metodologia PRISMA (Fig. 1).

of these individuals.

The objective of this review is to evaluate the effect of nutritional interventions on the symptomatology of individuals diagnosed with ASD.

2. MATERIALS AND METHODS

This study consists of a systematic review of literature examining the effects of nutritional interventions on the symptomatology of autism spectrum disorder, conducted in accordance with the *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) guideline (Page et al. 2021).

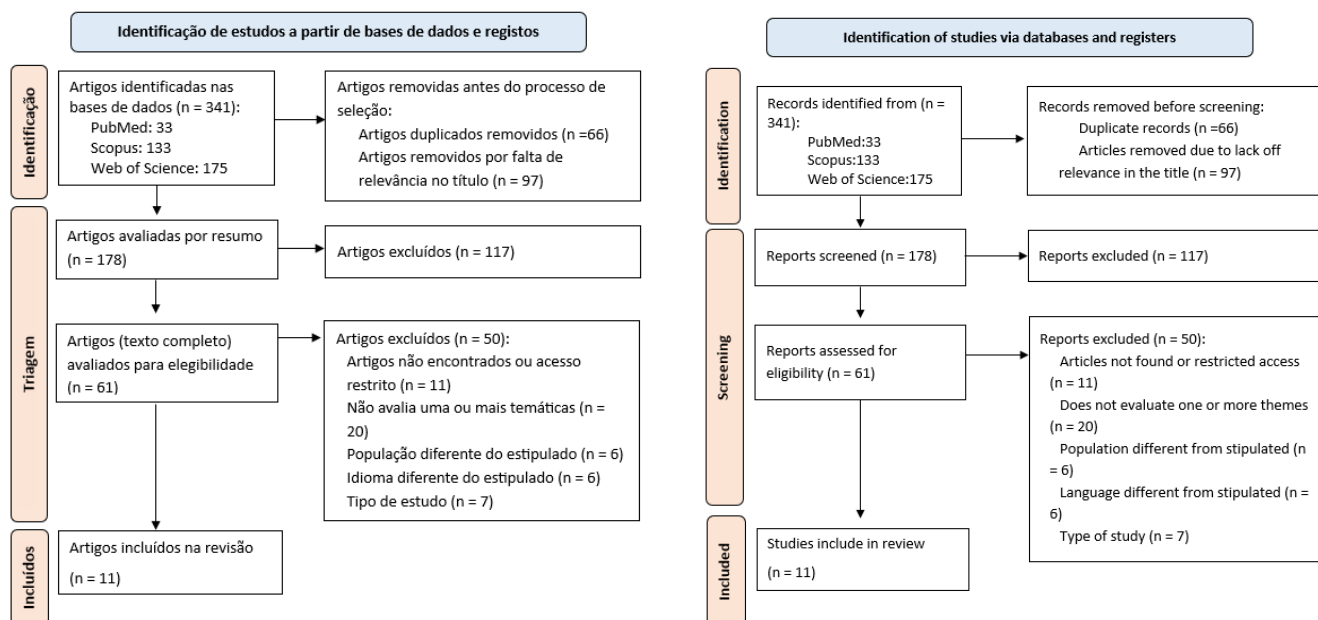
The research question was formulated using the PICO framework (Barrington et al. 2024). Do nutritional interventions affect symptomatology in autism spectrum disorder?

- P (Population): children and adolescents diagnosed with ASD
- I (intervention): dietary modifications or nutritional supplementation
- C (Comparison): no intervention or placebo
- O (Outcomes): changes in core ASD symptoms

The search was conducted in the PubMed, Web of Science, and Scopus databases, considering publications from recent years (2019 – 2024), using the following combination of descriptors and Boolean operators: (“Autism Spectrum Disorder” OR “Autistic Disorder”) AND (Nutrition OR supplements OR “Dietary Supplements” OR “Feeding Behavior”).

Eligible studies included primary research designs (clinical trials, cohort studies, and case-control studies) published in English and/or Portuguese. The target population comprised children and adolescents diagnosed with ASD. Studies included if they evaluated nutritional interventions, such as dietary modifications or supplementation, and their impact on ASD symptomatology. Studies were excluded if they did not focus on nutritional interventions or included participants with multiple diagnoses.

The search identified 341 articles, of which 163 were excluded due to duplication or lack of relevance based on the title, resulting in 178 articles for the next stage. After reading the abstracts, 117 articles were excluded. In addition, of the remaining 61 articles, 11 met the eligibility criteria and were included in the final review. The study selection process is illustrated in the PRISMA flow diagram (Fig. 1).



Figura/Figure 1: Fluxograma de seleção dos artigos/Flow diagram of study selection.

As ferramentas da Cochrane RoB 2 e ROBINS-I foram utilizadas para avaliar de forma sistemática a qualidade metodológica dos estudos incluídos nesta revisão (Sterne et al., 2019).

Com a aplicação da ferramenta em cada artigo incluído na revisão, foi possível determinar o nível de risco de viés dos estudos. Dos estudos incluídos, 45,45% (n=5) dos estudos apresentaram baixo risco de viés (Tabela 1).

The Cochrane RoB 2 and ROBINS-I tools were used to systematically assess the methodological quality of the studies included in this review (Sterne et al., 2019).

By applying the tool to each article included in the review, it was possible to determine the level of risk of bias in the studies. Of the studies included, 45,45% (n=5) were classified as having a low risk of bias (Table 1).

Tabela/Table 1: Resultados da avaliação da qualidade dos artigos/Results of the article quality assessment.

AUTOR (ANO)/ AUTHOR (YEAR)	RoB 2 para ensaios clínicos randomizados/ RoB for randomized controlled trials					Overall
	D1	D2	D3	D4	D5	
de la Torre-Aguilar et al. (2022)	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk
Javadfar et al. (2020)	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk
Mazahery et al. (2019a)	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk
Mazahery et al. (2019b)	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk
Nogay et al. (2021)	Baixo risco/ Low risk	Algumas preocupações/ Some concerns	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Algumas preocupações/ Some concerns
Raghavan et al. (2021)	Algumas preocupações/ Some concerns	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Algumas preocupações/ Some concerns	Algumas preocupações/ Some concerns
Zimmerman et al.(2020)	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Algumas preocupações/ Some concerns	Algumas preocupações/ Some concerns
Piwowarczyk et al. (2019)	Baixo risco/ Low risk	Algumas preocupações/ Some concerns	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Algumas preocupações/ Some concerns
Renard et al (2020)	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk

RoB 2 para ensaios clínicos cruzados/ RoB 2 for crossover trials								
	D1	D2	D3	D4		D5		Overall
González-Domenech et al. (2020)	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Algumas preocupações/ Some concerns	Baixo risco/ Low risk		Baixo risco/ Low risk		Algumas preocupações/ Some concerns
ROBINS-I para ensaios clínicos não randomizados/ ROBINS-I for nonrandomized clinical trials								
	D1.1	D1.2	D1.3	D2	D3	D4	D5	Overall
González-Domenech et al. (2020)	Risco moderado/ Moderate risk	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Algumas preocupações/ Some concerns	Baixo risco/ Low risk	Baixo risco/ Low risk	Algumas preocupações/ Some concerns	Algumas preocupações/ Some concerns

Legenda/Legend: D1: Risco de viés decorrente do processo de randomização; D1.1: Risco de viés devido à confusão; D1.2: Risco de viés na seleção dos participantes do estudo; D1.3: Risco de viés na classificação das intervenções; D2: Risco de viés devido a desvios das intervenções pretendidas; D3: Risco de viés devido à falta de dados de resultados; D4: Risco de viés na medição do resultado; D5: Risco de viés na seleção do resultado relatado; D5: Risco de viés decorrente de efeitos de período e de transição/D1: Risk of bias from the randomization process; D1.1: Risk of bias due to confounding; D1.2: Risk of bias in the selection of study participants; D1.3: Risk of bias in the classification of interventions; D2: Risk of bias due to deviations from intended interventions; D3: Risk of bias due to lack of outcome data; D4: Risk of bias in outcome measurement; D5: Risk of bias in the selection of the reported outcome; D5: Risk of bias from period and transition effects.

3. RESULTADOS

As principais características dos estudos selecionados foram resumidas e sintetizadas numa tabela, incluindo informações como o primeiro autor, ano de publicação, país, tipo de estudo, tamanho amostral, variáveis de recolha de dados, sexo, idade média e objetivo (Tabela 2).

Esta revisão sistemática inclui estudos publicados entre 2019 (Mazahery et al. 2019a) e 2022 (Meguid et al. 2022). Os tipos de estudo variam entre ensaios clínicos randomizados (n=2; 18,18%) (Nogay et al. 2021; Raghavan et al. 2022), ensaio clínico randomizado duplo-cego (n=5; 45,45%) (Mazahery et al. 2019a, 2019b; Javadfar et al. 2020; Zimmerman et al. 2021; de la Torre-aguilar et al. 2022), ensaio clínico randomizado simples-cego (n=2; 18,18%) (Piwowarczyk et al. 2019; Renard et al. 2020), ensaio clínico cruzado (n=1; 9,09%) (González-Domenech et al. 2020) e ensaio clínico não randomizado (n=1; 9,09%) (Meguid et al. 2022).

Os estudos analisados foram conduzidos em diferentes países, incluindo Irão (n=1; 9,09%) (Javadfar et al. 2020), Espanha (n=2; 18,18%) (González-Domenech et al. 2020; de la Torre-aguilar et al. 2022), Nova Zelândia (n=2; 18,18%) (Mazahery et al. 2019a, 2019b), França (n=1; 9,09%) (Renard et al. 2020), Estados Unidos (n=2; 18,18%) (Nogay et al. 2021; Zimmerman et al. 2021), Egito (n=1; 9,09%) (Meguid et al. 2022), Polónia (n=1; 9,09%) (Piwowarczyk et al. 2019) e Índia (n=1; 9,09%) (Raghavan et al. 2022).

O tamanho amostral variou entre 15 (Nogay et al. 2021) e 111 (Mazahery et al. 2019b) participantes, sendo o sexo masculino predominante. A média de idade dos participantes variou entre 43,76 meses ± 11,2 (de la Torre-aguilar et al. 2022) e 11,7 anos ± 3,3 (Nogay et al. 2021).

3. RESULTS

The main characteristics of the included studies were summarized and synthesized in a table, including information on the first author, year of publication, country, study design, sample size, data collection variables, sex distribution, mean age, and study objectives (Table 2).

This systematic review includes studies published between 2019 (Mazahery et al. 2019a) and 2022 (Meguid et al. 2022). Study design comprised randomized controlled trials (n=2; 18,18%) (Nogay et al. 2021; Raghavan et al. 2022), double-blind randomized controlled trials (n=5; 45,45%) (Mazahery et al. 2019a, 2019b; Javadfar et al. 2020; Zimmerman et al. 2021; de la Torre-aguilar et al. 2022), single-blind randomized controlled trials (n=2; 18,18%) (Piwowarczyk et al. 2019; Renard et al. 2020), crossover clinical trial (n=1; 9,09%) (González-Domenech et al. 2020) and non-randomized clinical trial (n=1; 9,09%) (Meguid et al. 2022).

The studies analyzed were conducted in different countries, including Iran (n=1; 9,09%) (Javadfar et al. 2020), Spain (n=2; 18,18%) (González-Domenech et al. 2020; de la Torre-aguilar et al. 2022), New Zealand (n=2; 18,18%) (Mazahery et al. 2019a, 2019b), France (n=1; 9,09%) (Renard et al. 2020), United States (n=2; 18,18%) (Nogay et al. 2021; Zimmerman et al. 2021), Egypt (n=1; 9,09%) (Meguid et al. 2022), Poland (n=1; 9,09%) (Piwowarczyk et al. 2019) and India (n=1; 9,09%) (Raghavan et al. 2022).

The sample sizes ranged from 15 (Nogay et al. 2021) to 111 (Mazahery et al. 2019b) participants, with a predominance of males. The mean age of participants ranged from 43,76 months ± 11,2 (de la Torre-aguilar et al. 2022) to 11,7 years ± 3,3 (Nogay et al. 2021).

Tabela/Table 2: Principais características dos estudos incluídos/Main characteristics of the included studies.

AUTOR (ANO)/ AUTHOR (YEAR)	PAÍS/ COUNTRY	TIPO DE ESTUDO/ STUDY DESIGN	VARIÁVEIS DE RECOLHA DE DADOS/DATA COLLECTION VARIABLES	N (AMOSTRA)/ N (SAMPLE SIZE)	SEXO/ SEX	IDADE MÉDIA ± DESVIO PADRÃO/ MEAN AGE ± STANDARD DEVIATION	OBJETIVOS/ OBJECTIVES
de la Torre-Aguilar et al. (2022)	Espanha/ Spain	Ensaio clínico randomizado duplo-cego/ Double-blind randomized controlled clinical trial	ADOS PDDBI CARS SDQ	54 (44 completaram o estudo)/ completed the study)	M – 83%(45) F – 17%(9)	43,76 meses/ months ± 11,2	Investigar se a suplementação com ômega-3 melhora os sintomas clínicos do PEA/To investigate whether omega-3 supplementation improves clinical symptoms of ASD
González-Domenech. et al. (2020)	Espanha/ Spain	Ensaio clínico cruzado/ Crossover clinical trial	ATEC ERC-III ABC	37 (29 completaram o estudo)/ completed the study)	M – 78%(29) F – 22%(8)	8,9 anos/years ± 4,0	Avaliar a eficácia da dieta FBCF nos principais sintomas da PEA/To evaluate the effectiveness of the GFCF diet in the main symptoms of ASD
Javadfar et al. (2020)	Irão/ Iran	Ensaio clínico randomizado duplo-cego/ Double-blind randomized controlled clinical trial	ATEC ABC CARS	52 (43 completaram o estudo)/ completed the study)	M – 83,7% (36) F – 16,3%(7)	8,91 anos/ years ± 2,87	Examinar os efeitos da suplementação de vitamina D nos principais sintomas em crianças com PEA/To examine the effects of vitamin D supplementation on core symptoms in children with ASD
Mazahery et al. (2019a)	Nova Zelândia/ New Zealand	Ensaio clínico randomizado duplo-cego/ Double-blind randomized controlled clinical trial	ABC	117 (73 completaram o estudo)/ completed the study)	M – 85%(100) F – 15%(17)	5,2 anos/years ± 1,4	Avaliar a eficácia da vitamina D, ômega-3 ou ambos juntos na redução dos sintomas de irritabilidade e hiperatividade em indivíduos com PEA/To evaluate the effectiveness of vitamin D, omega-3, or both combined in reducing irritability and hyperactivity symptoms in individuals with ASD
Mazahery et al. (2019b)	Nova Zelândia/ New Zealand	Ensaio clínico randomizado duplo-cego/ Double-blind randomized controlled clinical trial	SRS SPM	117 (73 completaram o estudo)/ completed the study)	M – 85%(100) F – 15%(17)	5,2 anos/years ± 1,4	Avaliar a eficácia da vitamina D, ômega-3 ou ambos juntos na redução dos principais sintomas da PEA/To evaluate the effectiveness of vitamin D, omega-3, or both combined in reducing core ASD symptoms
Meguid et al. (2022)	Egito/ Egypt	Ensaio clínico não randomizado/ Nonrandomized clinical trial	CARS ADIR	40	M – 67,5%(27) F – 32,5%(13)	ND	Investigar a modulação da microbiota intestinal na PEA com probióticos como uma opção terapêutica na redução dos sintomas/To investigate gut microbiota modulation using probiotics as a therapeutic strategy for reducing ASD symptoms
Nogay et al. (2021)	EUA/ United States	Ensaio clínico piloto randomizado/ Randomized pilot clinical trial	ABC PedsQL	15	M – 66,7%(10) F – 33,3%(5)	11,7 anos/ years ± 3,3	Avaliar o efeito da dieta baixa em FODMAP sobre os sintomas da PEA/ To evaluate the effect of a low-FODMAP diet on ASD symptoms
Raghavan et al. (2021)	Índia/ India	Ensaio clínico piloto randomizado prospectivo e aberto/ Prospective, open-label randomized pilot trial	CARS	18 (13 completaram o estudo)/ completed the study)	ND	ND	Investigar os efeitos do beta-glucano AFO-202 derivado de levedura negra (Nichi Glucan) na pontuação da Escala de Avaliação do Autismo na Infância (CARS)/To investigate the effects of AFO-202 beta-glucan derived from black yeast (Nichi Glucan) on childhood autism rating scale (CARS) scores
Zimmerman et al.(2020)	EUA/ United States	Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e depois tratamento aberto/ Double-blind randomized controlled clinical trial followed by open-label treatment	ABC SRS OACIS	45	M – 88,9%(40) F – 11,1%(5)	7,3 anos/years ± 2,8	Determinar a eficácia do sulforafano na melhora dos sintomas da PEA/ To determine the efficacy of sulforaphane in improving ASD symptoms

Piwowarczyk et al. (2019)	Polônia/ Poland	Ensaio clínico randomizado simples-cego/ Single-blind randomized controlled clinical trial	ADOS SCQ ASRS VABS	66 (58 completaram o estudo)/ completed the study)	M – 84,8%(56) F – 15,2%(10)	48 meses/ months ± 11	Avaliar o efeito do glúten no funcionamento comportamental dos indivíduos com PEA/To evaluate the effect of gluten on behavioral functioning in individuals with ASD
Renard et al (2020)	França/ France	Ensaio clínico simples-cego/ Single-blind clinical trial	ADOS SRS	19	M – 79%(15) F – 21%(4)	6 anos/years e 4 meses / months	Avaliar a eficácia do ácido fólico na redução dos sintomas da PEA/To evaluate the effectiveness of folic acid in reducing ASD symptoms

Legenda/Legend: %: Percentagem; ABC: Aberrant Behavior Checklist; ADI-R: Autism Diagnostic Interview – revised; ADOS: Autism Diagnostic Observation Schedule; ASRS: Autism Spectrum Rating Scales; ATEC: Autism Treatment Evaluation Checklist ; CARS: Childhood Autism Rating Scale; ERC-III: Emotional Regulation Checklist ; F: Feminino; M: Masculino; OACIS: Ohio Autism Clinical Impressions Scale; PDDBI: Pervasive Developmental Disorders Behavior Inventory; PedsQL: Pediatric Quality of Life Inventory; SCQ: Social Communication Questionnaire; SDQ: Strengths and Difficulties Questionnaire; ; SPM: Sensory Processing Measure ; SRS: Escala de Responsividade Social; PEA: Perturbação do Espectro do Autismo; VABS: Vineland Adaptive Behavior Scales/%: Percentage; ABC: Aberrant Behavior Checklist; ADI-R: Autism Diagnostic Interview – revised; ADOS: Autism Diagnostic Observation Schedule; ASRS: Autism Spectrum Rating Scales; ATEC: Autism Treatment Evaluation Checklist ; CARS: Childhood Autism Rating Scale; ERC-III: Emotional Regulation Checklist ; F: Female; M: Male; OACIS: Ohio Autism Clinical Impressions Scale; PDDBI: Pervasive Developmental Disorders Behavior Inventory; PedsQL: Pediatric Quality of Life Inventory; SCQ: Social Communication Questionnaire; SDQ: Strengths and Difficulties Questionnaire; ; SPM: Sensory Processing Measure ; SRS: Social Responsive Scale; ASD: Autism Spectrum Disorder; VABS: Vineland Adaptive Behavior Scales.

Para a recolha de dados sobre a evolução clínica dos participantes, os instrumentos mais utilizados foram *Aberrant Behavior Checklist* (ABC) (N=5; 45,45%) (Mazahery et al. 2019a; González-Domenech et al. 2020; Javadfar et al. 2020; Nogay et al. 2021; Zimmerman et al. 2021), *Childhood Autism Rating Scale* (CARS) (N=4; 36,36%) (Javadfar et al. 2020; de la Torre-aguilar et al. 2022; Meguid et al. 2022; Raghavan et al. 2022), Escala de Responsividade Social (SRS) (N=3; 27,27%) (Mazahery et al. 2019b; Renard et al. 2020; Zimmerman et al. 2021) e *Autism Diagnostic Observation Schedule* (ADOS) (N=3; 27,27%) (Piwowarczyk et al. 2019; Renard et al. 2020; de la Torre-aguilar et al. 2022).

A tabela 3 sintetiza os resultados dos estudos incluídos, evidenciando as intervenções e a evolução clínica dos participantes. Entre os estudos analisados, 27,27% (n=3) investigaram a modificação de dieta. Destes 9,09% (n=1) avaliaram a dieta baixa em *Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides and Polyols* (FODMAPs) (Nogay et al. 2021), 9,09% (n=1) analisaram a dieta sem glúten (Piwowarczyk et al. 2019) e 9,09% (n=1) examinaram a dieta sem glúten e/ou sem caseína (González-Domenech et al. 2020).

Os restantes 72,73% (n=8) focaram-se em suplementos alimentares. Dentre esses, 18,18% (n=2) investigaram a suplementação de ómega-3, vitamina D e a combinação de ambos (Mazahery et al. 2019a, 2019b), 9,09% (n=1) avaliaram a suplementação exclusiva de vitamina D (Javadfar et al. 2020), 9,09% (n=1) examinaram a suplementação de ómega-3 isolado, (de la Torre-aguilar et al. 2022), 9,09% (n=1) analisaram a suplementação de ácido fólico (Renard et al. 2020), 9,09% (n=1) exploraram a suplementação de sulforafano (Zimmerman et al. 2021), 9,09% (n=1) suplementação com *Nichi Glucan* (beta-glucano AFO-202) (Raghavan et al. 2022) e 9,09% (n=1) estudaram probióticos (Meguid et al. 2022). A duração do acompanhamento variou entre 2 semanas (Nogay et al. 2021) e 12 meses (Mazahery et al. 2019a).

No estudo conduzido por Nogay et al. (2021), que avaliou a dieta baixa em FODMAPs, após apenas duas semanas de intervenção, observou-se uma redução expressiva dos sintomas gastrointestinais, acompanhada por um aumento substancial da qualidade de vida, que passou de 64,8 ± 12,6 para 85,5 ± 9,7. Além disso, o estudo identificou melhorias moderadas em

To collect data on the participants clinical evolution, the most used instruments were the *Aberrant Behavior Checklist* (ABC) (N=5; 45,45%) (Mazahery et al. 2019a; González-Domenech et al. 2020; Javadfar et al. 2020; Nogay et al. 2021; Zimmerman et al. 2021), *Childhood Autism Rating Scale* (CARS) (N=4; 36,36%) (Javadfar et al. 2020; de la Torre-aguilar et al. 2022; Meguid et al. 2022; Raghavan et al. 2022), *Social Responsive Scale* (SRS) (N=3; 27,27%) (Mazahery et al. 2019b; Renard et al. 2020; Zimmerman et al. 2021) and *Autism Diagnostic Observation Schedule* (ADOS)(N=3; 27,27%) (Piwowarczyk et al. 2019; Renard et al. 2020; de la Torre-aguilar et al. 2022).

Table 3 summarizes the results of the included studies, highlighting the interventions and associated clinical outcomes. Among the included studies, 27,27% (n=3) investigated dietary modifications. Of these, 9,09% (n=1) evaluated a low – *Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides and Polyols* (FODMAPs) diet (Nogay et al. 2021), 9,09% (n=1) analyzed the gluten-free diet (Piwowarczyk et al. 2019) and 9,09% (n=1) examined a gluten-free and/or casein-free diet (González-Domenech et al. 2020).

The remaining 72,73% (n=8) focused on nutritional supplementation. Among these, 18,18%(n=2) investigated omega-3, vitamin D supplementation, and their combination (Mazahery et al. 2019a, 2019b), 9,09% (n=1) evaluated vitamin D supplementation alone (Javadfar et al. 2020), 9,09% (n=1) examined isolated omega-3 supplementation (de la Torre-aguilar et al. 2022), 9,09% (n=1) analyzed folic acid supplementation (Renard et al. 2020), 9,09% (n=1) explored sulforaphane supplementation (Zimmerman et al. 2021), 9,09% (n=1) supplementation with *Nichi Glucan* (beta-glucan AFO-202) (Raghavan et al. 2022) and 9,09% (n=1) studied probiotics (Meguid et al. 2022). The follow-up duration ranged from 2 weeks (Nogay et al. 2021) to 12 months (Mazahery et al. 2019a).

In the study conducted by Nogay et al. (2021), they evaluated a low-FODMAPs diet. After only two weeks of intervention, a significant reduction in gastrointestinal symptoms was observed, accompanied by a substantial improvement in quality of life, which went from 64,8 ± 12,6 to 85,5 ± 9,7. Moderate improvements were also observed in

sintomas comportamentais, nomeadamente: Irritabilidade: de $17,6 \pm 10,4$ para $13,4 \pm 7,8$ e Hiperatividade: de $18,8 \pm 13,0$ para $16,0 \pm 12,5$.

Por outro lado, o estudo de Piwowarczyk et al. (2019), focado na dieta sem glúten, não observou diferenças significativas entre os grupos, mas o grupo que seguiu a dieta sem glúten teve uma redução nos escores do *Social Communication Questionnaire* (SCQ) de $16,55 \pm 5,51$ para $13,85 \pm 4,94$, no *Vineland Adaptive Behavior Scales* (VABS) de $20,11 \pm 6,21$ para $17,57 \pm 6,57$ e *Autism Spectrum Rating Scales* (ASRS) de $67,09 \pm 10,06$ para $62,27 \pm 7,99$.

O estudo de González-Domenech et al. (2020), que avaliou os efeitos da dieta isenta de glúten e caseína (GFCF), reportou resultados globalmente semelhantes entre os grupos analisados. O Grupo A, que iniciou o ensaio com uma dieta habitual e, após seis meses, passou a seguir a dieta GFCF, não apresentou alterações significativas nos escores ao longo do estudo. Já o Grupo B, que começou com a dieta GFCF e posteriormente regressou à dieta normal, evidenciou uma redução nos escores do *Autism Treatment Evaluation Checklist* (ATEC) de $62,3 \pm 27,4$ para $54,9 \pm 20,9$ durante o período em que seguiu a dieta GFCF. Contudo, após o retorno à dieta habitual, verificou-se um ligeiro aumento para $55,7 \pm 26,7$. Apesar de o Grupo B ter demonstrado uma melhoria sintomática durante a fase de intervenção dietética, a magnitude das diferenças, a variabilidade dos escores e o desenho do estudo não permitem estabelecer conclusões definitivas sobre a eficácia da dieta GFCF. Os autores destacam que os efeitos observados podem refletir respostas individuais, fatores gastrointestinais concomitantes ou flutuações naturais dos sintomas, reforçando a necessidade de ensaios clínicos mais robustos, com maior duração e amostras mais representativas.

O estudo de La Torre-Aguilar et al. (2022) comparou os efeitos da suplementação de ómega-3 com os de um placebo, utilizando a *Childhood Autism Rating Scale* (CARS) e o *Pervasive Developmental Disorders Behavior Inventory* (PDDBI) como medidas de avaliação. No grupo placebo, os escores da CARS mantiveram-se relativamente estáveis, passando de $33,01 \pm 6,84$ no início para $28,98 \pm 5,48$ após seis meses. No PDDBI observou-se uma ligeira redução, de $48,96 \pm 8,857$ para $46,38 \pm 7,161$. No grupo que recebeu suplementação de ómega-3, verificou-se igualmente uma pequena diminuição nos escores: a CARS reduziu de $32,22 \pm 8,68$ para $28,69 \pm 7,74$, enquanto o PDDBI passou de $49,3 \pm 12,4$ para $48,3 \pm 12,9$.

Javadfar et al. (2020) investigou a suplementação com vitamina D, utilizando as escalas CARS e *Autism Treatment Evaluation Checklist* (ATEC), para avaliar a sua eficácia, após 15 semanas de suplementação, o escore de CARS reduziu de $40,90 \pm 5,21$ para $38,79 \pm 5,52$, enquanto o ATEC passou de $71,09 \pm 21,12$ para $66,40 \pm 21,51$, indicando melhorias nos sintomas do autismo.

Mazahery et al. (2019a, 2019b) conduziu dois estudos que analisaram o efeito da suplementação com vitamina D, ómega-3 e uma combinação dos dois, na hiperatividade, irritabilidade e nos sintomas em geral. No grupo que recebeu vitamina D, os escores de irritabilidade diminuíram de $17 \pm 7,8$ para $13 \pm 7,7$, enquanto a hiperatividade de $22 \pm 9,6$ para 17 ± 11 . Os escores de Escala de Responsividade Social (SRS) passaram de 101 ± 24 para 90 ± 30 e o *Sensory Processing Measure* (SPM) de 116 ± 31

behavioral symptoms, namely, Irritability: from $17,6 \pm 10,4$ to $13,4 \pm 7,8$ and Hyperactivity: from $18,8 \pm 13,0$ to $16,0 \pm 12,5$.

In contrast, Piwowarczyk et al. (2019), who focused on the gluten-free diet, did not observe significant differences between the groups, but the group that followed the gluten-free diet had a reduction in scores on the *Social Communication Questionnaire* (SCQ) from $16,55 \pm 5,51$ to $13,85 \pm 4,94$, on the *Vineland Adaptive Behavior Scales* (VABS) from $20,11 \pm 6,21$ to $17,57 \pm 6,57$ and on the *Autism Spectrum Rating Scales* (ASRS) from $67,09 \pm 10,06$ to $62,27 \pm 7,99$.

The study by González-Domenech et al. (2020), which evaluated the effects of gluten-free and casein-free (GFCF), reported globally similar results between the groups analyzed. Group A, which started the trial with its regular diet and, after six months, began following the GFCF diet, did not show significant changes in scores throughout the study. Group B, which started with the GFCF diet and later returned to a regular diet, showed a reduction in *Autism Treatment Evaluation Checklist* (ATEC) scores from $62,3 \pm 27,4$ to $54,9 \pm 20,9$ during the period in which they followed the GFCF diet. However, after returning to the regular diet, a slight increase to $55,7 \pm 26,7$ was observed. Although group B demonstrated symptomatic improvement during the dietary interventional phase, the magnitude of the differences, the variability of the scores, and the study design do not allow for definitive conclusions about the effectiveness of the GFCF diet. The authors emphasize that the observed effects may reflect individual responses, concomitant gastrointestinal factors, or natural fluctuations in symptoms, reinforcing the need for more robust clinical trials with longer durations and more representative samples.

The study by La Torre-Aguilar et al. (2022) compared the effects of omega-3 supplementation with those of a placebo, using the *Childhood Autism Rating Scale* (CARS) and the *Pervasive Developmental Disorders Behavior Inventory* (PDDBI) as assessment measures. In the placebo group, CARS scores remained relatively stable, going from $33,01 \pm 6,84$ at baseline to $28,98 \pm 5,48$ after six months. In the PDDBI, a slight reduction was observed, from $48,96 \pm 8,857$ to $46,38 \pm 7,161$. In the group that received omega-3 supplementation, a small decrease in scores was also observed: the CARS decreased from $32,22 \pm 8,68$ to $28,69 \pm 7,74$, while the PDDBI decreased from $49,3 \pm 12,4$ to $48,3 \pm 12,9$.

Javadfar et al. (2020) investigated vitamin D supplementation, using the CARS and *Autism Treatment Evaluation Checklist* (ATEC) scales to assess its effectiveness. After 15 weeks of supplementation, the CARS score decreased from $40,90 \pm 5,21$ to $38,79 \pm 5,52$, while the ATEC score decreased from $71,09 \pm 21,12$ to $66,40 \pm 21,51$, indicating improvements in autism symptoms.

Mazahery et al. (2019a, 2019b) conducted two studies that analyzed the effects of supplementation with vitamin D, omega-3, and their combination on hyperactivity, irritability, and symptoms in general. In the group that received vitamin D, irritability scores decreased from $17 \pm 7,8$ to $13 \pm 7,7$, while hyperactivity decreased from $22 \pm 9,6$ to 17 ± 11 . Social Responsive Scale (SRS) scores decreased from 101 ± 24 to 90 ± 30 , and *Sensory Processing Measure* (SPM) from 116 ± 31

para 109 ± 29 . No grupo que recebeu ômega-3, a irritabilidade reduziu de $14 \pm 8,0$ para $9,1 \pm 7,4$ e a hiperatividade de $17 \pm 9,2$ para $14 \pm 8,8$, com o SRS diminuindo de 99 ± 25 para 82 ± 29 e o SPM de 112 ± 27 para 98 ± 29 . Para o grupo que recebeu a combinação de vitamina D e ômega-3, a irritabilidade diminuiu de $13 \pm 8,2$ para $11 \pm 8,4$, a hiperatividade de 21 ± 12 para 16 ± 11 , o SRS de 96 ± 29 para 84 ± 33 e o SPM de 109 ± 21 para 100 ± 26 . Esses resultados indicam melhorias significativas dos sintomas após a suplementação, sugerindo que tanto a vitamina D quanto o ômega-3, separadamente ou combinados, podem melhorar os sintomas comportamentais e sociais (Mazahery et al. 2019b, 2019a).

O estudo de Meguid et al. (2022) investigou o efeito da suplementação de probióticos. Após 3 meses de tratamento, houve uma diminuição nos escores de CARS de $32,68 \pm 0,94$ para $28,94 \pm 0,84$. Isso indica uma melhoria nos sintomas da PEA nos participantes do estudo, sugerindo que os probióticos podem ter efeitos positivos na redução dos sintomas comportamentais associados à PEA.

Raghavan et al. (2022) analisaram o tratamento com *Nichi Glucan*, observando uma redução no escore de CARS, em casos de autismo leve e moderado de $33,5 \pm 2,5$ para $32,5 \pm 0,5$ e em casos de autismo grave de $43,71 \pm 4,80$ para $40,1 \pm 5,96$ após 90 dias de tratamento. O estudo sugere que o *Nichi Glucan* pode contribuir para a melhoria dos sintomas da PEA independente da gravidade.

Zimmerman et al. (2021) investigaram o impacto do sulforafano (SF) na redução dos escores de SRS e *Aberrant Behavior Checklist* (ABC) ao longo de 36 semanas. Inicialmente houve uma redução dos escores tanto no grupo placebo, quando no grupo suplementado com SF, mas após a suplementação ser suspensa, houve um aumento dos escores. Isso sugere que, embora o SF possa ter efeitos benéficos na redução dos sintomas, esses efeitos não são permanentes e os sintomas retornam após a suspensão da suplementação.

O estudo de Renard et al. (2020) analisou o efeito da suplementação de ácido fólico através dos escores de *Autism Diagnostic Observation Schedule* (ADOS) e SRS, após 12 semanas, o escore de ADOS reduziu de $16,8 \pm 4,4$ para $14,0 \pm 5,0$ e o de SRS diminuiu de $92,2 \pm 13,6$ para $83,9 \pm 14,6$.

4. DISCUSSÃO

Diversos estudos têm investigado a relação entre dietas restritivas e a PEA, sugerindo que determinadas abordagens alimentares podem exercer efeitos diferenciados sobre os sintomas comportamentais, gastrointestinais e neurofuncionais em pessoas com autismo (Hyman et al. 2012).

O estudo de Nogay et al. (2021) demonstrou que a adoção de uma dieta pobre em FODMAPs resultou numa redução significativa dos sintomas gastrointestinais em crianças com PEA. A influência dos FODMAPs na sintomatologia da PEA está intimamente ligada ao papel que estes carboidratos fermentáveis desempenham na microbiota intestinal, uma vez que são rapidamente metabolizados por bactérias colônicas, produzindo gases e ácidos gordos de cadeia curta que podem exacerbar sintomas gastrointestinais em indivíduos com disbiose ou sensibilidade visceral (Hill et al., 2017). Em pessoas com PEA, que frequentemente apresentam alterações

to 109 ± 29 . In the group that received omega-3, irritability scores decreased from $14 \pm 8,0$ to $9,1 \pm 7,4$ and hyperactivity from $17 \pm 9,2$ to $14 \pm 8,8$, with the SRS decreasing from 99 ± 25 to 82 ± 29 and the SPM from 112 ± 27 to 98 ± 29 . For the group that received the combination of vitamin D and omega-3, irritability scores decreased from $13 \pm 8,2$ to $11 \pm 8,4$, hyperactivity from 21 ± 12 to 16 ± 11 , SRS from 96 ± 29 to 84 ± 33 , and SPM from 109 ± 21 to 100 ± 26 . These results indicate significant improvements in symptoms after supplementation, suggesting that both vitamin D and omega-3, separately or combined, can improve behavioral and social symptoms (Mazahery et al. 2019b, 2019a).

The study by Meguid et al. (2022) investigated the effect of probiotic supplementation. After 3 months of treatment, there was a decrease in CARS scores from $32,68 \pm 0,94$ to $28,94 \pm 0,84$. This indicates an improvement in ASD symptoms in study participants, suggesting that probiotics may have positive effects in reducing behavioral symptoms associated with ASD.

Raghavan et al. (2022) analyzed treatment with *Nichi Glucan*, observing a reduction in CARS scores in cases of mild and moderate autism from $33,5 \pm 2,5$ to $32,5 \pm 0,5$ and in cases of severe autism from $43,71 \pm 4,80$ to $40,1 \pm 5,96$ after 90 days of treatment. The study suggests that *Nichi Glucan* may contribute to the improvement of ASD symptoms regardless of severity.

Zimmerman et al. (2021) investigated the impact of sulforaphane (SF) on reducing SRS and *Aberrant Behavior Checklist* (ABC) scores over 36 weeks. Initially, there was a reduction in scores in both the placebo group and the group supplemented with SF, but after supplementation was discontinued, there was an increase in scores. This suggests that, although SF may have beneficial effects in reducing symptoms, these effects are not permanent, and symptoms return after supplementation is discontinued.

The study by Renard et al. (2020) analyzed the effect of folic acid supplementation using the *Diagnostic Observation Schedule* (ADOS) and SRS scores. After 12 weeks, the ADOS score decreased from $16,8 \pm 4,4$ to $14,0 \pm 5,0$ and the SRS score decreased from $92,2 \pm 13,6$ to $83,9 \pm 14,6$.

4. DISCUSSION

Several studies have investigated the relationship between restrictive diets and ASD, suggesting that specific dietary approaches may exert differentiated effects on behavioral, gastrointestinal, and neurofunctional symptoms in people with autism (Hyman et al. 2012).

The study by Nogay et al. (2021) demonstrated that adopting a low-FODMAPs diet resulted in a significant reduction in gastrointestinal symptoms in children with ASD. The effects of FODMAPs on ASD symptomatology are closely linked to the role that these fermentable carbohydrates play in the gut microbiota, as they are rapidly processed by colonic bacteria, producing gases and short-chain fatty acids that can exacerbate gastrointestinal symptoms in individuals with dysbiosis or visceral sensitivity (Hill et al., 2017). In people with ASD, who frequently present with microbial alterations such as lower diversity and a greater abundance

microbianas, como menor diversidade e maior abundância de gêneros potencialmente inflamatórios, a redução de FODMAPs pode diminuir a fermentação excessiva e a inflamação local, contribuindo para maior conforto gastrointestinal (Vuong & Hsiao, 2017; Berding & Donovan, 2018). A resposta individual à intervenção dietética pode depender de múltiplos fatores, incluindo o perfil microbiano basal, a presença de comorbidades gastrointestinais e a integridade da barreira intestinal, aspectos que têm sido amplamente associados à variabilidade clínica observada na PEA (Berding & Donovan, 2016). Os autores sugerem que a melhoria comportamental observada pode ser secundária à redução do desconforto gastrointestinal, reforçando a ligação entre sintomas digestivos, bem-estar emocional e comportamento em crianças com PEA. Outros estudos sugerem também que a redução de sintomas gastrointestinais pode, indiretamente, melhorar irritabilidade, ansiedade e padrões de sono, sobretudo em indivíduos com marcada sensibilidade gastrointestinal (Holingue et al., 2018).

A dieta sem glúten, estudada por Piwowarczyk et al. (2019) não demonstrou diferenças entre os grupos com dieta normal e dieta sem glúten nos principais sintomas. Outro estudo que avaliou a dieta GFCF, também não apresentou resultados significativos (González-Domenech et al. 2020). Duas revisões sistemáticas e meta-análise sugeriram que a dieta GFCF pode reduzir comportamentos estereotipados e melhorar a cognição em crianças com PEA (Keller et al. 2021; Quan et al. 2022). Um estudo realizado por Pennesi & Klein (2012) analisou crianças com PEA que seguiram a dieta GFCF. Os resultados mostraram que algumas delas apresentaram melhorias significativas nos sintomas gastrointestinais, como diarreia e dor abdominal, que são comuns em muitos indivíduos com autismo. A melhoria nesses sintomas pode ter levado a uma melhora no comportamento e na qualidade de vida geral. Um ensaio piloto conduzido por Knivsberg et al. (1995), indicou que a dieta GFCF resultou em melhorias comportamentais em algumas crianças com PEA, como maior atenção, menos comportamentos repetitivos e melhora nas interações sociais. Estes resultados podem estar relacionados com vários mecanismos fisiológicos e comportamentais descritos na literatura. Um dos mais discutidos é a hipótese dos peptídeos opióides, que sugere que a digestão incompleta do glúten e da caseína pode originar peptídeos bioativos com atividade semelhante à de opióides endógenos, capazes de influenciar a função cerebral e, conseqüentemente, o comportamento (Whiteley et al., 2013). Além disso, muitos indivíduos com PEA apresentam comorbidades gastrointestinais, permeabilidade intestinal aumentada e disbiose, fatores que podem amplificar a resposta a intervenções dietéticas (Berding & Donovan, 2016). A eliminação de glúten e caseína pode reduzir processos inflamatórios locais, melhorar o conforto gastrointestinal e, conseqüentemente, diminuir irritabilidade, agitação e comportamentos repetitivos, que frequentemente se agravam em situações de desconforto digestivo (Holingue et al., 2018).

A suplementação de ômega-3 e vitamina D demonstrou ser eficaz no controle dos sintomas da PEA. Mazahery et al. (2019a, 2019b), relataram melhorias significativas na redução da irritabilidade, hiperatividade, no funcionamento sociocomunicativo e nos problemas sensoriais. Javadfar et al. (2020) observaram que a vitamina D isolada melhorou

de potencialmente inflamatória, reduzindo o consumo de FODMAPs, o que pode diminuir a fermentação excessiva e a inflamação local, melhorando o conforto gastrointestinal (Vuong & Hsiao, 2017; Berding & Donovan, 2018). A resposta individual às intervenções dietéticas pode depender de múltiplos fatores, incluindo a composição da microbiota basal, a presença de comorbidades gastrointestinais e a integridade da barreira intestinal, todos os quais têm sido associados com a variabilidade clínica observada em indivíduos com PEA (Berding & Donovan, 2016). Os autores sugerem que a melhoria comportamental observada pode ser secundária à redução do desconforto gastrointestinal, reforçando a ligação entre sintomas digestivos, bem-estar emocional e comportamento em crianças com PEA. Outros estudos também sugerem que a redução dos sintomas gastrointestinais pode, indiretamente, melhorar a irritabilidade, a ansiedade e os padrões de sono, especialmente em indivíduos com sensibilidade gastrointestinal marcada (Holingue et al., 2018).

O estudo sobre a dieta sem glúten por Piwowarczyk et al. (2019) não demonstrou diferenças entre os grupos com dieta normal e dieta sem glúten nos principais sintomas. Outro estudo que avaliou a dieta GFCF, também não apresentou resultados significativos (González-Domenech et al. 2020). Duas revisões sistemáticas e meta-análises sugeriram que a dieta GFCF pode reduzir comportamentos estereotipados e melhorar a cognição em crianças com PEA (Keller et al. 2021; Quan et al. 2022). Um estudo realizado por Pennesi & Klein (2012) analisou crianças com PEA que seguiram a dieta GFCF. Os resultados mostraram que algumas delas apresentaram melhorias significativas nos sintomas gastrointestinais, como diarreia e dor abdominal, que são comuns em muitos indivíduos com autismo. A melhoria nesses sintomas pode ter levado a uma melhora no comportamento e na qualidade de vida geral. Um ensaio piloto conduzido por Knivsberg et al. (1995) indicou que a dieta GFCF resultou em melhorias comportamentais em algumas crianças com PEA, como maior atenção, menos comportamentos repetitivos e melhora nas interações sociais. Estes resultados podem estar relacionados com vários mecanismos fisiológicos e comportamentais descritos na literatura. Um dos mais discutidos é a hipótese dos peptídeos opióides, que sugere que a digestão incompleta do glúten e da caseína pode originar peptídeos bioativos com atividade semelhante à de opióides endógenos, capazes de influenciar a função cerebral e, conseqüentemente, o comportamento (Whiteley et al., 2013). Além disso, muitos indivíduos com PEA apresentam comorbidades gastrointestinais, permeabilidade intestinal aumentada e disbiose, fatores que podem amplificar a resposta a intervenções dietéticas (Berding & Donovan, 2016). A eliminação de glúten e caseína pode reduzir processos inflamatórios locais, melhorar o conforto gastrointestinal e, conseqüentemente, diminuir a irritabilidade, a agitação e os comportamentos repetitivos, que frequentemente se agravam em situações de desconforto digestivo (Holingue et al., 2018).

A suplementação com ômega-3 e vitamina D demonstrou ser eficaz no controle dos sintomas da PEA. Mazahery et al. (2019a, 2019b) relataram melhorias significativas na redução da irritabilidade, hiperatividade, funcionamento sociocomunicativo e problemas sensoriais. Javadfar et al. (2020) observaram que a suplementação com vitamina D isolada melhorou quase todos os sintomas relacionados com deficiências neurodesenvolvimentais.

quase todos os sintomas relacionados com defeitos de neuro desenvolvimento. Esses achados sobre a vitamina D estão de acordo com revisões anteriores, que relataram reduções de hiperatividade em indivíduos com PEA após suplementação com vitamina D (Li et al. 2022). A vitamina D tem efeitos neuroprotetores ao estimular a produção de neurotróficos e reduzir a inflamação cerebral, o que pode ser benéfico na mitigação dos sintomas comportamentais associados à PEA (Mazahery et al. 2016). O estudo de la Torre-aguilar et al. (2022) sobre a suplementação de ômega-3 não obteve resultados estatisticamente significativos, mas observaram uma ligeira melhoria dos sintomas. Os ácidos gordos ômega-3, especialmente o eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), desempenham um papel crucial na regulação da inflamação e na saúde do sistema nervoso central (Sinn et al. 2010).

Além disso, o ômega-3 pode influenciar a neurotransmissão, alterando os sistemas dopaminérgico e serotoninérgico, que desempenham papéis fundamentais no comportamento e nas emoções, sistemas frequentemente afetados em indivíduos com autismo (De La Presa Owens & Innis 1999; Patrick & Ames 2015). Outros estudos sobre a suplementação de ômega-3 apontaram benéficos mínimos e destacaram a falta de evidências conclusivas sobre o potencial terapêutico do ômega-3 para indivíduos com PEA (Agostoni et al. 2017; Horvath et al. 2017).

A suplementação com sulforafano, um composto derivado de sementes de brócolos, revelou ter potencial no tratamento dos sintomas do autismo, embora os sintomas retornarem após a suspensão da suplementação (Zimmerman et al., 2021). O sulforafano é um fitoquímico multifuncional que atua em diversas vias bioquímicas e moleculares envolvidas no autismo, como estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e neuroinflamação, como demonstrado em outros estudos (Innamorato et al. 2008; Tarozzi et al. 2013; Liu et al. 2016). O estudo de Liu et al. (2020) avaliou o seu efeito em indivíduos com PEA e concluiu que o sulforafano pode melhorar os sintomas comportamentais do autismo, apesar do resultado ter sido estatisticamente insignificante.

O ácido fólico também demonstrou eficácia num pequeno número de crianças com PEA, revelando melhorias significativas no escore de ADOS, particularmente na interação social e comunicação (Renard et al., 2020). Essa substância é uma forma reduzida do folato (vitamina B9), sendo mais facilmente absorvida pelo organismo e pode atravessar a barreira hematoencefálica. Em alguns indivíduos com PEA é observada a presença de autoanticorpos, anticorpos produzidos pelo sistema imune, que interferem no transporte de folato para o cérebro, resultando na síndrome de deficiência de folato cerebral. Essa condição é caracterizada pela regressão do neurodesenvolvimento, sendo diagnosticada pela baixa concentração de folato no líquido cefalorraquidiano (Ramaekers et al. 2005). A suplementação em altas doses de ácido fólico tem-se mostrado eficaz na melhoria dos sintomas neurológicos, na comunicação e os comportamentos repetitivos (Mierau & Neumeyer, 2019). Essas descobertas sugerem que o ácido fólico pode ser uma intervenção promissora, especialmente em casos de indivíduos que apresentam alterações no metabolismo do folato.

These findings on vitamin D are consistent with previous reviews reporting reductions in hyperactivity in individuals with ASD after vitamin D supplementation (Li et al. 2022). Vitamin D has neuroprotective effects by stimulating the production of neurotrophs and reducing brain inflammation, which may be beneficial in mitigating behavioral symptoms associated with ASD (Mazahery et al. 2016). The study by de la Torre-aguilar et al. (2022) on omega-3 supplementation did not obtain statistically significant effects, but they observed a slight improvement in symptoms. Omega-3 fatty acids, especially eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), play a crucial role in regulating inflammation and the health of the central nervous system (Sinn et al. 2010).

Additionally, omega-3 may influence neurotransmission by modulating dopaminergic and serotonergic systems, which play fundamental roles in behavior and emotions, systems frequently affected in individuals with autism (De La Presa Owens & Innis 1999; Patrick & Ames 2015). Other studies on omega-3 supplementation have shown minimal benefits and highlighted the lack of conclusive evidence on the therapeutic potential of omega-3 for individuals with ASD (Agostoni et al. 2017; Horvath et al. 2017).

Supplementation with sulforaphane, a compound derived from broccoli seeds, has shown potential in treating autism symptoms, although symptoms return after supplementation is discontinued (Zimmerman et al., 2021). Sulforaphane is a multifunctional phytochemical that acts on several biochemical and molecular pathways involved in autism, including oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and neuroinflammation, as demonstrated in other studies (Innamorato et al. 2008; Tarozzi et al. 2013; Liu et al. 2016). The study by Liu et al. (2020) evaluated its effect on individuals with ASD and concluded that sulforaphane may improve the behavioral symptoms of autism, although the result was statistically insignificant.

Folic acid has also demonstrated efficacy in some children with ASD, revealing significant improvements in the ADOS score, particularly in social interaction and communication (Renard et al., 2020). This substance is a reduced form of folate (vitamin B9), being more easily absorbed by the body and able to cross the blood-brain barrier. In some individuals with ASD, the presence of autoantibodies, antibodies produced by the immune system, is observed, which interferes with the transport of folate to the brain, resulting in cerebral folate deficiency syndrome. This condition is characterized by neurodevelopmental regression and is diagnosed by low folate concentration in the cerebrospinal fluid (Ramaekers et al. 2005). High-dose folic acid supplementation has been shown to be effective in improving neurological symptoms, communication, and repetitive behaviors (Mierau & Neumeyer, 2019). These findings suggest that folic acid may be a promising intervention, especially in cases of individuals with alterations in folate metabolism.

The use of prebiotics and probiotics has also shown promising effects in ASD symptom management. *Nichi Glucan* significantly improved ASD symptoms as assessed by the CARS score, especially in emotional and sleep-related aspects. Although the findings point to a potential multimodal effect,

O uso de prebióticos e probióticos também se mostrou eficaz no controlo dos sintomas da PEA. O *Nichi Glucan* melhorou significativamente os sintomas da PEA avaliados no escore do CARS, especialmente nos aspetos emocionais e relacionados com o sono. Embora os achados apontem para um potencial efeito multimodal, imunomodulação, redução de neuroinflamação e melhoria da saúde intestinal, são necessários estudos independentes e de maior escala para confirmar estes efeitos.

Os probióticos demonstraram uma melhoria significativa nos escores de CARS, especialmente no controle corporal, percepção visual, capacidade de comunicação e capacidade intelectual. Houve ainda melhorias na capacidade de se adaptar às mudanças, redução do terror e da inquietação, e efeitos positivos nos sintomas gastrointestinais, como dor abdominal, mudança na consistência das fezes, diminuição na diarreia, obstipação e outros desconfortos (Meguid et al., 2022).

O estudo de Ligezka et al. (2021) também apresentou resultados semelhantes em que houve a redução dos sintomas gastrointestinais e nos sintomas da PEA. Os prebióticos atuam aumentando o número ou a atividade das bactérias benéficas no intestino, diminuindo os microrganismos patogénicos e as suas atividades metabólicas prejudiciais, podendo influenciar a função imunológica. Os probióticos afetam o ecossistema intestinal, estimulam a resposta imunológica da mucosa intestinal, competem com microrganismos patogénicos e produzem ácidos gordos de cadeia curta (Guarner et al. 2023). Prebióticos e probióticos apresentam efeitos benéficos na microbiota intestinal, reforçam a barreira intestinal, regulam a inflamação e a resposta imune, também têm efeitos benéficos reduzindo sintomas gastrointestinais como a redução da incidência e gravidade da diarreia (Guarner et al. 2023). Esses mecanismos tornam-se relevantes no contexto da PEA, pois os distúrbios gastrointestinais são frequentemente observados nesses indivíduos. A capacidade dos probióticos e prebióticos de modular a microbiota e influenciar o sistema imunológico sugere que podem impactar não apenas a saúde intestinal, mas também os sintomas comportamentais do autismo (Li et al. 2017). A modulação da microbiota emerge como uma intervenção promissora para a melhoria dos sintomas da PEA.

Esta revisão apresenta algumas limitações que devem ser consideradas na interpretação dos resultados. A heterogeneidade metodológica dos estudos incluídos, limita a robustez e a comparabilidade das conclusões. As intervenções analisadas diferem amplamente quanto ao tipo, composição e dosagem dos suplementos e duração dos protocolos (variando entre 2 semanas e 12 meses). A maioria dos estudos apresenta tamanhos amostrais reduzidos, o que diminui o poder estatístico e aumenta a probabilidade de resultados instáveis ou não generalizáveis. Além disso, foram utilizados instrumentos de avaliação distintos, dificultando a comparação direta entre estudos e contribuindo para variações nas conclusões apresentadas. Esta diversidade metodológica, aliada ao risco de viés identificado em alguns estudos, reforça a necessidade de ensaios clínicos mais rigorosos, padronizados e com maior representatividade para permitir conclusões mais sólidas sobre o impacto das intervenções nutricionais na sintomatologia da PEA.

immunomodulation, reduction of neuroinflammation, and improvement of gut health, independent and larger-scale studies are needed to confirm these effects.

Probiotics demonstrated significant improvement in CARS scores, especially in body control, visual perception, communication skills, and intellectual capacity. There were also improvements in the ability to adapt to changes, a reduction in terror and restlessness, and positive effects on gastrointestinal symptoms, such as abdominal pain, changes in stool consistency, decreased diarrhea, constipation, and other discomforts (Meguid et al., 2022).

The study by Ligezka et al. (2021) also presented similar results in which there was a reduction in gastrointestinal symptoms and in ASD symptoms. Prebiotics act by promoting the growth or activity of beneficial bacteria in the gut, decreasing pathogenic microorganisms and their harmful metabolic activities, and may influence immune function. Probiotics affect the intestinal ecosystem, stimulate the immune response of the intestinal mucosa, compete with pathogenic microorganisms, and produce short-chain fatty acids (Guarner et al. 2023). Prebiotics and probiotics have beneficial effects on the gut microbiota, strengthen the intestinal barrier, regulate inflammation and the immune response, and have beneficial effects in reducing gastrointestinal symptoms such as the incidence and severity of diarrhea (Guarner et al. 2023). These mechanisms become relevant in the context of ASD, as gastrointestinal disorders are frequently observed in these individuals. The ability of probiotics and prebiotics to modulate the gut microbiota and influence the immune system suggests that they may impact not only gut health but also the behavioral symptoms of autism (Li et al. 2017). Microbiota modulation represents a promising intervention for improving ASD symptoms.

This review has several limitations that should be considered when interpreting the findings. The methodological heterogeneity of the included studies limits the robustness and comparability of the results. Interventions varied widely in type, composition, dosage, and duration (ranging from 2 weeks to 12 months). Most studies had relatively small sample sizes, reducing statistical power and increasing the likelihood of unstable or non-generalizable findings. Additionally, the use of diverse outcome measures hindered direct comparisons across studies and contributed to variability in reported results. This methodological diversity, combined with the risk of bias identified in some studies, underscores the need for more rigorous, standardized, and large-scale clinical trials to establish more definitive conclusions regarding the impact of nutritional interventions on ASD symptomatology.

5. CONCLUSIONS

This systematic review suggests that several nutritional interventions – including probiotics, prebiotics, folinic acid, omega-3, and vitamin D – may contribute to improvements in specific domains of ASD symptomatology, particularly hyperactivity, irritability, social communication, and gastrointestinal well-being. Although the observed effects varied across studies, the available evidence indicates that these interventions may play a complementary role in

5. CONCLUSÕES

Esta revisão sistemática indica que diversas intervenções nutricionais — incluindo probióticos, prebióticos, ácido fólico, ômega-3 e vitamina D — podem contribuir para melhorias em determinados domínios da sintomatologia da PEA, sobretudo em áreas como hiperatividade, irritabilidade, comunicação social e bem-estar gastrointestinal. Embora os efeitos observados variem entre estudos, a evidência disponível sugere que estas intervenções podem desempenhar um papel complementar no tratamento multidimensional da PEA, especialmente em indivíduos com comorbidades gastrointestinais ou défices nutricionais identificados. Pesquisas futuras são essenciais para confirmar a eficácia destas intervenções e identificar quais subgrupos de indivíduos com PEA podem beneficiar de forma mais consistente, considerando fatores como idade, perfil nutricional, severidade dos sintomas, estado inflamatório e características da microbiota intestinal. É igualmente fundamental que estudos futuros incluam a monitorização sistemática de potenciais efeitos adversos, bem como análises de dose-resposta, duração ideal da intervenção e interações com outras terapias comportamentais ou farmacológicas. A personalização das intervenções nutricionais, baseada em marcadores clínicos e biológicos, representa um passo crucial para o desenvolvimento de abordagens mais eficazes, seguras e alinhadas com as necessidades individuais de cada paciente.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

CONTRIBUIÇÕES AUTORAIS

Conceptualização, Cibele Adrião e Ana Maria Pereira; metodologia, Cibele Adrião e Ana Maria Pereira; análise formal, Cibele Adrião e Ana Maria Pereira; investigação, Cibele Adrião; redação - preparação do draft original, Cibele Adrião; redação - revisão e edição, Ana Maria Pereira. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- Adams JB, Audhya T, McDonough-Means S, Rubin RA, Quig D, Geis E, Gehn E, Loresto M, Mitchell J, Atwood S, Barnhouse S, Lee W. Nutritional and metabolic status of children with autism vs. neurotypical children, and the association with autism severity. *Nutrition & Metabolism* 8:34, 2011.
- Agostoni C, Nobile M, Ciappolino V, Delvecchio G, Tesei A, Turolo S, Crippa A, Mazzocchi A, Altamura CA, Brambilla P. The Role of Omega-3 Fatty Acids in Developmental Psychopathology: A Systematic Review on Early Psychosis, Autism, and ADHD. *International Journal of Molecular Sciences* 18(12):2608, 2017.
- Barrington MJ, D'Souza RS, Mascha EJ, Narouze S, Kelley GA. Systematic reviews and meta-analyses in regional anesthesia and pain medicine (Part I): guidelines for preparing the review protocol. *Regional Anesthesia & Pain Medicine* 49:391–402, 2024.
- Berding K, Donovan SM. Microbiome and nutrition in autism spectrum disorder: current knowledge and research needs. *Nutrition Reviews* 74(12):723–736, 2016.
- Berding K, Donovan SM. Diet Can Impact Microbiota Composition in Children With Autism Spectrum Disorder. *Frontiers in Neuroscience* 12:515, 2018.
- Bundgaard-Nielsen C, Knudsen J, Leutscher PDC, Lauritsen MB, Nyegaard M, Hagstrom S, Sorensen S. Gut microbiota profiles of autism spectrum disorder and attention deficit/hyperactivity disorder: A systematic literature review. *Gut Microbes* 11(5):1172–1187, 2020.
- Campisi L, Imran N, Nazeer A, Skokauskas N, Azeem MW. Autism spectrum disorder. *British Medical Bulletin* 127:91–100, 2018.
- Cryan JF, O'Riordan KJ, Sandhu K, Peterson V, Dinan TG. The gut microbiome in neurological disorders. *Lancet Neurology* 19(2):179–194, 2020.
- De La Presa Owens S, Innis SM. Docosahexaenoic and Arachidonic Acid Prevent a Decrease in Dopaminergic and Serotonergic Neurotransmitters in Frontal Cortex Caused by a Linoleic and α -Linolenic Acid Deficient Diet in Formula-fed Piglets. *Journal of Nutrition* 129 (11):2088–2093, 1999.
- De La Torre-aguilár MJ, Gomez-Fernandez A, Flores-Rojas K, Martín-Borreguero P, Mesa MD, Perez-Navero JL, Olivares M, Gil A, Gil-Campos M. Docosahexaenoic and Eicosapentaenoic Intervention Modifies Plasma and Erythrocyte Omega-3 Fatty Acid Profiles But Not the Clinical Course of Children With Autism Spectrum Disorder: A Randomized Control Trial. *Frontiers in Nutrition* 9:790250, 2022.
- Fetissov SO, Averina OV, Danilenko VN. Neuropeptides in the microbiota-brain axis and feeding behavior in autism spectrum disorder. *Nutrition*

the multidimensional management of ASD, especially in individuals with gastrointestinal comorbidities or identified nutritional deficiencies. Future research is needed to confirm the efficacy of these interventions and to determine which subgroups of individuals with ASD are most likely to benefit, considering factors such as age, nutritional status, symptom severity, inflammatory profile, and gut microbiota characteristics. It is equally crucial that future studies include systematic monitoring of potential adverse effects, as well as analyses of dose-response relationships, optimal intervention duration, and interactions with behavioral or pharmacological therapies. Personalized nutritional interventions, guided by clinical and biological markers, represent an important step toward the development of more effective, safer, and more individualized approaches to ASD management.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization, Cibele Adrião and Ana Maria Pereira; methodology, Cibele Adrião and Ana Maria Pereira; formal analysis, Cibele Adrião and Ana Maria Pereira; investigation, Cibele Adrião; writing – original draft preparation, Cibele Adrião; writing – review and editing, Ana Maria Pereira. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

- 61:43–48, 2019.
- Ghanizadeh A. Targeting neurotensin as a potential novel approach for the treatment of autism. *Journal of Neuroinflammation* 7:58, 2010.
- González-Domenech PJ, Atienza FD, Pablos CG, Fernández Soto ML, Martínez-Ortega JM, Gutiérrez-Rojas L. Influence of a Combined Gluten-Free and Casein-Free Diet on Behavior Disorders in Children and Adolescents Diagnosed with Autism Spectrum Disorder: A 12-Month Follow-Up Clinical Trial. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 50(3):935–948, 2020.
- Guarner F, Sanders ME, Szajewska H, Cohen H, Eliakim R, Herrera C, Karakan T, Merenstein D, Piscocoy A, Ramakrishna B, Salminen S. Probióticos e prebióticos. *Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia* 2023.
- Hayes J, Ford T, Rafeeqe H, Russell G. Clinical practice guidelines for diagnosis of autism spectrum disorder in adults and children in the UK: A narrative review. *BMC Psychiatry* 18:1–25, 2018.
- Hill P, Muir JG, Gibson PR. Controversies and Recent Developments of the Low-FODMAP Diet. *Gastroenterology & Hepatology* 13(1):36–45, 2017.
- Holingue C, Newill C, Lee LC, Pasricha PJ, Fallin MD. Gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder: A review of the literature on ascertainment and prevalence. *Autism Research* 11:24–36, 2018.
- Horvath A, Łukasik J, Szajewska H. ω -3 Fatty Acid Supplementation Does Not Affect Autism Spectrum Disorder in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis 147(3):367–376, 2017.
- Hyman SL, Levy SE, Myers SM, COUNCIL ON CHILDREN WITH DISABILITIES, SECTION ON DEVELOPMENTAL AND BEHAVIORAL PEDIATRICS. Identification, evaluation, and management of children with autism spectrum disorder. *Pediatrics* 145(1), 2020.
- Hyman SL, Stewart PA, Schmidt B, Cain U, Lemcke N, Foley JT, Robin P, Clemons T, Reynolds A, Johnson C, Handen B, James J, Courtney PM, Molloy C, NG PK. Nutrient Intake From Food in Children With Autism. *Pediatrics* 130(Supplement_2):145–153, 2012.
- Innamorato NG, Rojo AI, García-Yagüe ÁJ, Yamamoto M, de Ceballos ML, Cuadrado A. The transcription factor Nrf2 is a therapeutic target against brain inflammation. *Journal of Immunology* 181(1):680–689, 2008.
- Javadfar Z, Abdollahzad H, Moludi J, Rezaeian S, Amirian H, Foroughi AA, Nachvak SM, Goharmehr N, Mostafai R. Effects of vitamin D supplementation on core symptoms, serum serotonin, and interleukin-6 in children with autism spectrum disorders: A randomized clinical trial. *Nutrition* 79–80:110986, 2020.
- Keller A, Rimestad ML, Rohde JF, Petersen BH, Korfitsen CB, Tarp S, Lauritsen MB, Händel MN. The Effect of a Combined Gluten- and Casein-Free Diet on Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* 13:470, 2021.
- Knivsberg A, Reichelt KL, Nodland M, Høien T. Autistic Syndromes and Diet: a follow-up study. *Scandinavian Journal of Educational Research* 39(3):223–236, 1995.
- Li B, Xu Y, Pang D, Zhao Q, Zhang L, Li M, Li W, Duan G, Zhu C. Interrelation between homocysteine metabolism and the development of autism spectrum disorder in children. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 15:947513, 2022.
- Li Q, Han Y, Dy ABC, Hagerman RJ. The Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorders. *Frontiers Cellular Neuroscience* 11:120, 2017.
- Ligezka AN, Sonmez AI, Corral-Frias MP, Golebiowski R, Lynch B, Croarkin PE, Romanowicz M. A systematic review of microbiome changes and impact of probiotic supplementation in children and adolescents with neuropsychiatric disorders. *Progress Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry* 108:110187, 2021.
- Liu H, Talalay P, Fahey JW. Biomarker-Guided Strategy for Treatment of Autism Spectrum Disorder (ASD). *CNS Neurological Disorders-Drug Targets* 15(5):602–613, 2016.
- Liu H, Zimmerman AW, Singh K, Connors SL, Diggins E, Stephenson KK, Dinkova-Kostova AT, Fahey JW. Biomarker Exploration in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells for Monitoring Sulforaphane Treatment Responses in Autism Spectrum Disorder. *Scientific Reports* 10:5822, 2020.
- Lord C, Elsabbagh M, Baird G, Veenstra-Vanderweele J. Autism spectrum disorder. *The Lancet* 392:508–520, 2018.
- Lord C, Brugha TS, Charman T, Cusack J, Dumas G, Frazier T, Jones EJM, Jones RM, Pickles A, State MW, Taylor JL, Veenstra-Vanderweele J. Autism spectrum disorder. *Nature Reviews Disease Primers* 6(1):5, 2020.
- Loyacono N, Sanz ML, Gerbi MD, Martínez LM, Ferreira ML, Iermoli R. Gastrointestinal, nutritional, endocrine, and microbiota conditions in autism spectrum disorder. *Arch Argent Pediatr* 118(3):e271–277, 2020.
- Lugo-Marín J, Magán-Maganto M, Rivero-Santana A, Cuellar-Pompa L, Alviani M, Jenaro-Rio C, Díez E, Canal-Bedia R. Prevalence of psychiatric disorders in adults with autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. *Research in Autism Spectrum Disorders* 59:22–33, 2019.
- Maenner MJ, Warren Z, Williams AR, Amoakohene E, Bakian AV, Bilder DA, Durkin MS, Fitzgerald RT, Furnier SM, Hughes MM, Ladd-Acosta CM, McArthur D, Pas ET, Salinas A, Vehorn A, Williams S, Esler A, Grzybowski A, Hall-Lande J, Nguyen RHN, Pierce K, Zahorodny W, Hudson A, Hallas L, Mancilla KC, Patrick M, Shenouda J, Sidwell K, DiRienzo M, Gutierrez J, Spivey MH, Lopez M, Pettygrove S, Schwenk YD, Washington A, Shaw KA. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2020. *MMWR Surveill Summ* 72(2):1–14, 2023.
- Manivasagam T, Arunadevi S, Essa MM, SaravanaBabu C, Borah A, Thenmozhi AJ, Qoronfleh MW. Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Autism. *Advances in Neurobiology* 24:193–206, 2020.
- Mazahery H, Camargo CA, Conlon C, Beck KL, Kruger MC, von Hurst PR. Vitamin D and Autism Spectrum Disorder: A Literature Review. *Nutrients* 8:236, 2016.
- Mazahery H, Conlon CA, Beck KL, Mugridge O, Kruger MC, Stonehouse W, Camargo CA Jr, Meyer BJ, Jones B, Von Hurst PR. A randomised controlled trial of vitamin D and omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids in the treatment of irritability and hyperactivity among children with autism spectrum disorder. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 187:9–16, 2019a.
- Mazahery H, Conlon CA, Beck KL, Mugridge O, Kruger MC, Stonehouse W, Camargo CA Jr, Meyer BJ, Tsang B, Jones B, von Hurst PR. A Randomised-Controlled Trial of Vitamin D and Omega-3 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids in the Treatment of Core Symptoms of Autism Spectrum Disorder in Children. *Journal Autism Developmental Disorders* 49(5):1778–1794, 2019b.
- Meguid NA, Mawgoud YIA, Bjorklund G, Mehanne NS, Anwar M, Effat BAEK, Chirumbolo S, Elrahman MMA. Molecular Characterization of Probiotics and Their Influence on Children with Autism Spectrum Disorder. *Molecular Neurobiology* 59:6896–6902, 2022.
- Mierau SB, Neumeyer AM. Metabolic interventions in Autism Spectrum Disorder. *Neurobiology of Disease* 132:104544, 2019.
- Nogay NH, Walton J, Roberts KM, Nahikian-Nelms M, Witwer AN. The Effect of the Low FODMAP Diet on Gastrointestinal Symptoms, Behavioral Problems and Nutrient Intake in Children with Autism Spectrum Disorder: A Randomized Controlled Pilot Trial. *Journal Autism and Developmental*

- Disorders 51:2800–2811, 2021.
- Oliveira G, Ataíde A, Marques C, Miguel TS, Coutinho AM, Mota-Vieira L, Gonçalves E, Lopes NM, Rodrigues V, Carmona da Mota H, Vicente AM. Epidemiology of autism spectrum disorder in Portugal: prevalence, clinical characterization, and medical conditions. *Developmental Medicine & Child Neurology* 49(10):726-733, 2007.
- Organização Mundial da Saúde. International Classification of Diseases, Eleventh Revision (ICD-11). Geneva: World Health Organization 2022.
- Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, Shamseer L, Tetzlaff JM, Akl EA, Brennan SE, Chou R, Glanville J, Grimshaw JM, Hróbjartsson A, Lalu MM, Li T, Loder EW, Mayo-Wilson E, McDonald S, McGuinness LA, Stewart LA, Thomas J, Tricco AC, Welch VA, Whiting P, Moher D. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 372, 2021.
- Patrick RP, Ames BN. Vitamin D and the omega-3 fatty acids control serotonin synthesis and action, part 2: Relevance for ADHD, bipolar disorder, schizophrenia, and impulsive behavior. *FASEB Journal* 29(6):2207–2222, 2015.
- Pennesi CM, Klein LC. Effectiveness of the gluten-free, casein-free diet for children diagnosed with autism spectrum disorder: Based on parental report. *Nutritional Neuroscience* 15(2):85–91, 2012.
- Piowarczyk A, Horvath A, Pisula E, Kawa R, Szajewska H. Gluten-Free Diet in Children with Autism Spectrum Disorders: A Randomized, Controlled, Single-Blinded Trial. *Journal Autism Developmental Disorders* 50:482–490, 2020.
- Posar A, Visconti P. Autism Spectrum Disorder in 2023: A Challenge Still Open. *Turkish Archives of Pediatrics* 58(6):566-571, 2023.
- Qin L, Wang H, Ning W, Cui M, Wang Q. New advances in the diagnosis and treatment of autism spectrum disorders. *European Journal of Medical Research* 29:322, 2024.
- Quan L, Xu X, Cui Y, Han H, Hendren RL, Zhao L, You X. A systematic review and meta-analysis of the benefits of a gluten-free diet and/or casein-free diet for children with autism spectrum disorder. *Nutrition Reviews* 80(5):1237–1246, 2022.
- Raghavan K, Dedeepiya VD, Ikewaki N, Sonoda T, Iwasaki M, Preethy S, Abraham SJ. Improvement of behavioural pattern and alpha-synuclein levels in autism spectrum disorder after consumption of a beta-glucan food supplement in a randomised, parallel-group pilot clinical study. *BMJ Neurology Open* 4, 2022.
- Ramaekers VT, Rothenberg SP, Sequeira JM, Opladen T, Blau N, Quadros EV, Selhub J. Autoantibodies to Folate Receptors in the Cerebral Folate Deficiency Syndrome. *New England Journal of Medicine* 352(19):1985–1991, 2005.
- Renard E, Leheup B, Guéant-Rodriguez RM, Oussalah A, Quadros EV, Guéant JL. Folinic acid improves the score of Autism in the EFFET placebo-controlled randomized trial. *Biochimie* 173:57–61, 2020.
- Rudzki L, Szulc A. “Immune Gate” of Psychopathology—The Role of Gut Derived Immune Activation in Major Psychiatric Disorders. *Frontiers in Psychiatry* 9:205, 2018.
- Salari N, Rasoulopoor S, Rasoulopoor S, Shohaimi S, Jafarpour S, Abdoli N, Khaledi-Paveh B, Mohammadi M. The global prevalence of autism spectrum disorder: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Italian Journal of Pediatrics* 48:112, 2022.
- Shaaban SY, El Gendy YG, Mehanna NS, El-Senousy WM, El-Feki HSA, Saad K, El-Asheer OM. The role of probiotics in children with autism spectrum disorder: A prospective, open-label study. *Nutritional Neuroscience* 21(9):676-681, 2018.
- Sharma SR, Gonda X, Tarazi FI. Autism Spectrum Disorder: Classification, diagnosis and therapy. *Pharmacology & Therapeutics* 190:91–104, 2018.
- Sathe N, Andrews JC, McPheeters ML, Warren ZE. Nutritional and Dietary Interventions for Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review. *Pediatrics* 139(6): e20170346, 2017.
- Sinn N, Milte C, Howe PRC. Oiling the Brain: A Review of Randomized Controlled Trials of Omega-3 Fatty Acids in Psychopathology across the Lifespan. *Nutrients* 2:128–70, 2010.
- Sterne JAC, Hernán MA, Reeves BC, Savović J, Berkman ND, Viswanathan M, Henry D, Altman DG, Ansari MT, Boutron I, Carpenter JR, Chan AW, Churchill R, Deeks JJ, Hróbjartsson A, Kirkham J, Jüni P, Loke YK, Pigott TD, Ramsay CR, Regidor D, Rothstein HR, Sandhu L, Santaguida PL, Schünemann HJ, Shea B, Shrier I, Tugwell P, Turner L, Valentine JC, Waddington H, Waters E, Wells GA, Whiting PF, Higgins JPT. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. *BMJ* 355, 2016.
- Sterne JAC, Savović J, Page MJ, Elbers RG, Blencowe NS, Boutron I, Cates CJ, Cheng HY, Corbett MS, Eldridge SM, Emberson JR, Hernán MA, Hopewell S, Hróbjartsson A, Junqueira DR, Jüni P, Kirkham J, Lasserson T, Li T, McAleenan A, Reeves BC, Shepperd S, Shrier I, Stewart LA, Tilling K, White IR, Whiting PF, Higgins JPT. RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ* 366, 2019.
- Strati F, Cavalieri D, Albanese D, De Felice C, Donati C, Hayek J, Jousson O, Leoncini S, Renzi D, Calabrò A, De Filippo C. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome* 5:24, 2017.
- Tarozzi A, Angeloni C, Malaguti M, Morroni F, Hrelia S, Hrelia P. Sulforaphane as a potential protective phytochemical against neurodegenerative diseases. *Oxidative Medicine Cellular Longevity* 2013:415078, 2013.
- Vuong HE, Hsiao EY. Emerging roles for the gut microbiome in autism spectrum disorder. *Biological Psychiatry* 81:411-423, 2017.
- Whiteley P, Shattock P, Knivsberg AM, Seim A, Reichelt KL, Todd L, Carr K, Hooper M. Gluten- and casein-free dietary intervention for autism spectrum conditions. *Frontiers in Human Neuroscience* 6:344, 2013.
- Yu Y, Ozonoff S, Miller M. Assessment of Autism Spectrum Disorder. *Assessment* 31:24-41, 2023.
- Zeidan J, Fombonne E, Scorah J, Ibrahim A, Durkin MS, Saxena S, Yusuf A, Shih A, Elsabbagh M. Global prevalence of autism: A systematic review update. *Autism Research* 15:778-790, 2022.
- Zimmerman AW, Singh K, Connors SL, Liu H, Panjwani AA, Lee LC, Diggins E, Foley A, Melnyk S, Singh IN, James SJ, Frye RE, Fahey JW. Randomized controlled trial of sulforaphane and metabolite discovery in children with Autism Spectrum Disorder. *Molecular Autism* 12:38, 2021.

Tabela/Table 3: Intervenção e resultados FOLLOW-UP/Intervention and results FOLLOW-UP.

AUTOR (ANO)/ AUTHOR (YEAR)	Intervenção/ Intervention	Pré-intervenção média (dp)/ Baseline Mean (SD)	2 semanas/weeks	7 Semanas/weeks	3 meses/12 3 months/1
			INDICADOR CLÍNICO VARIAÇÃO/CLINICAL INDICATOR VARIATION	INDICADOR CLÍNICO VARIAÇÃO/CLINICAL INDICATOR VARIATION	INDICADOR CLÍNICO VARIAÇÃO/CLINICAL INDICATOR VARIATION
de la Torre-Aguilar et al. (2022)	Placebo	CARS=33,01±6,84	ND	ND	
		PDDBI=48,96±8,857			
	ómega-3/ omega-3	CARS=32,22±8,68			
		PDDBI=49,3±12,4			
González-Domenech et al. (2020)	GRUPO A/ GROUP A	ATEC=64,1±28,7	ND	ND	
	GRUPO B/ GROUP B	ATEC=62,3±27,4	ND	ND	
Javadfar et al. (2020)	Placebo	CARS=40,40±5,84	ND	ND	
		ATEC=76,28±24,76			
	Vitamina D/ Vitamin D	CARS=40,90±5,21			
		ATEC=71,09±21,12			
Mazahery et al. (2019a)	Placebo	Irritabilidade/Irritability =13±8,7	ND	ND	
		Hiperatividade/Hyperactivity =20±11			
	Vitamina D/ Vitamin D	Irritabilidade/Irritability = 17±7,8			
		Hiperatividade/Hyperactivity=22±9,6			
	ómega-3/ omega-3	Irritabilidade/Irritability =14±8,0			
		Hiperatividade/Hyperactivity=17 ± 9,2			
	Vitamina D e ómega-3	Irritabilidade/Irritability =13±8,2			
		Hiperatividade/Hyperactivity= 21±12			
Mazahery et al. (2019b)	Placebo	SRS=108±27	ND	ND	
		SPM=112±26			
	Vitamina D/ Vitamin D	SRS=101±24			
		SPM=116±31			
	ómega-3/ omega-3	SRS=99±25			
		SPM=112±27			
	Vitamina D e ómega-3/ Vitamin D and omega-3	SRS=96±29			
		SPM=109±21			
Meguid et al. (2022)	Probiótico/ Probiotics	CARS=32,68±0,94	ND	ND	CARS=
Nogay et al. (2021)	Controle/ Control	PedsQL=66,7±13,9	-	-	
		Irritabilidade/Irritability =20,0±7,5			
		Hiperatividade/Hyperactivity =22,7±7,7			
	Dieta baixo em FODMAP/ Low-FODMAP diet	PedsQL 64,8± 12,6			
		Irritabilidade/Irritability =17,6±10,4			
		Hiperatividade/Hyperactivity =18,8± 13,0			
Raghavan et al. (2021)	Controle/ Control	CARS=42,75±5,76	ND	ND	CARS
	Nichi Glucan	CARS autismo leve a moderado/CARS mild to moderate autism 33,5±2,5	ND	ND	CARS autismo mild to moderate
		CARS autismo grave/ CARS severe autism 43,71±4,80			CARS au
		CARS autismo grave/ CARS severe autism 43,71±4,80			CARS severe
CARS autismo grave/ CARS severe autism 43,71±4,80	CARS severe				
Zimmerman et al.(2020)	Placebo	ABC=61,47±25,15	ND	ND	
		SRS=116,59±18,04			
	Sulforafano/ Sulforaphane	ABC=74,53 ±25,32			
		SRS=119,53 ±28,30			
Piwowarczyk et al. (2019)	Dieta com Glúten/ Gluten-containing diet	ADOS=13,16 ± 6,18	ND	ND	
		SCQ=14,78±4,22			
		ASRS=64,90±5,21			
		VABS= 19,17±7,06			
	Dietas Sem Glúten/ Gluten-free diet	ADOS=12,11±4,83			
		SCQ=16,55±5,51			
		ASRS=67,09±10,06			
		VABS = 20,11±6,21			

RESULTADOS/RESULTS FOLLOW-UP						
Semanas/90 dias/ 2 weeks /90 days	15 semanas/weeks	22 semanas/weeks	6 meses/weeks	30 Semanas/weeks	36 semanas/weeks	12 meses/weeks
INDICADOR CLÍNICO CLINICAL INDICATOR VARIATION	INDICADOR CLÍNICO VARIÇÃO/CLINICAL INDICATOR VARIATION	INDICADOR CLÍNICO VARIÇÃO/CLINICAL INDICATOR VARIATION	INDICADOR CLÍNICO VARIÇÃO/CLINICAL INDICATOR VARIATION	INDICADOR CLÍNICO VARIÇÃO/CLINICAL INDICATOR VARIATION	INDICADOR CLÍNICO VARIÇÃO/CLINICAL INDICATOR VARIATION	INDICADOR CLÍNICO VARIÇÃO/CLINICAL INDICATOR VARIATION
ND	ND	ND	CARS=28,98±5,48 PDDBI=46,38±7,161	-	-	-
ND	ND	ND	CARS=28,69±7,74 PDDBI=48,3±12,9	-	-	-
ND	ND	ND	ATEC=62,9±28,9	ND	ND	ATEC=63,8±29,7
ND	ND	ND	ATEC=54,9±20,9	ND	ND	ATEC=55,7±26,7
ND	CARS=40,07±5,75 ATEC=75,52±24,6	-	-	-	-	-
ND	CARS 38,79 ± 5,52 ATEC 66,40±21,51	-	-	-	-	-
ND	ND	ND	ND	ND	ND	Irritabilidade/Irritability = 14±10 Hiperatividade/Hyperactivity=19±12
ND	ND	ND	ND	ND	ND	Irritabilidade/Irritability = 13±7,7 Hiperatividade/Hyperactivity=17±1
ND	ND	ND	ND	ND	ND	Irritabilidade/Irritability =9,1±7,4 Hiperatividade/Hyperactivity=14±8,8
ND	ND	ND	ND	ND	ND	Irritabilidade/Irritability = 11±8,4 Hiperatividade/Hyperactivity= 16±11
ND	ND	ND	ND	ND	ND	SRS=102±24 SPM=104±27
ND	ND	ND	ND	ND	ND	SRS=90±30 SPM=109±29
ND	ND	ND	ND	ND	ND	SRS=82±29 SPM=98±29
ND	ND	ND	ND	ND	ND	SRS=84±33 SPM=100±26
28,94±0,84	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
=42,5±5,4	-	-	-	-	-	-
leve a moderado/ derate autism 32,5±0,5	-	-	-	-	-	-
autismo grave/ autism 40,1±5,96	-	-	-	-	-	-
ND	ABC=-2,92 ±16,10 SRS=-9,75 ±16,22	ABC=-21,30 ±11,45 SRS=-14,54 ±15,60	ND	ABC=-11,73±25, SRS=-19,90±23,13	ABC=1,00±14,97 SRS=-4,75±14,34	-
ND	ABC=-19,50 ±18,47 SRS=-14,00 ±18,49	ABC=-25,60 ±24,41 SRS=14,92±16,6	ND	ABC=-12,91±18,15 SRS=-14,20 ±16,67	ABC=-4,00±27,23 SRS=-7,00±10,61	-
ND	ND	ND	ADOS=13,00±5,69 SCQ=14,33±5,95 ASRS=63,59±11,40 VABS=-18,50±6,11	-	-	-
ND	ND	ND	ADOS=-11,38±5,96 SCQ=13,85 ± 4,94 ASRS=62,27±7,99 VABS=-17,57±6,57	-	-	-

Renard et al (2020)	Placebo	ADOS=16,3±3,2	ND	ND	ADOS=
		SRS=93,4±16,0			SRS=
	Ácido folínico/ Folinic Acid	ADOS=16,8±4,4	ND	ND	ADOS=
		SRS=92,2±13,6			SRS=

Legenda/Legend: : ↑ Aumento do indicador clínico em relação a avaliação anterior; ↓ Diminuição do indicador clínico em relação a avaliação anterior; ABC: *Aberrant Behavior Checklist*; ADOS: *Autism Diagnostic Observation Schedule*; ADI-R: *Autism Diagnostic Interview – revised*; ASRS: *Autism Spectrum Rating Scale*; PDDDBI: *Pervasive Developmental Disorders Behavior Inventory*; PedsQL: *Pediatric Quality of Life Inventory*; SCQ: *Social Communication Questionnaire*; SDQ: *Strengths and Difficulties Questionnaire*; ERC-III: *Emotional Regulation Checklist*; F: Feminino; M: Masculino; OACIS: *Ohio Autism Clinical Impressions Scale*; VABS: *Vineland Adaptive Behavior Scales*; Grupo A: iniciou com a dieta normal e terminou com a dieta da GFCF (cada intervenção durante 6 meses); Grupo B: iniciou com a dieta da GFCF e terminou com a dieta normal (6 meses cada fase); Grupo B: Started with a GFCF diet and then switched to a regular diet (6 months each phase); ND: Not Described;

n=15,9 ±3,7	-	-	-	-	-	-
n=85,5 ±16,3	-	-	-	-	-	-
n=14,0 ±5,0	-	-	-	-	-	-
n=83,9 ±14,6	-	-	-	-	-	-

AI-R: Autism Diagnostic Interview – revised; ADOS: Autism Diagnostic Observation Schedule; ASRS: Autism Spectrum Rating Scales; ATEC: Autism Treatment Evaluation Checklist; CARS: Childhood Autism Rating Scale; PedsQL: Pediatric Quality of Life Inventory; SCQ: Social Communication Questionnaire; SDQ: Strengths and Difficulties Questionnaire; ; SPM: Sensory Processing Measure ; SRS: Escala de Social Responsiveness Scale com a dieta GFCF e terminou com a dieta da normal (cada intervenção durante 6 meses); ND: Não Definido/↑ Increase in clinical indicator compared to previous assessment; ↓ Decrease in clinical indicator compared to previous assessment; ASRS: Autism Spectrum Rating Scales; ATEC: Autism Treatment Evaluation Checklist ; CARS: Childhood Autism Rating Scale; ERC-III: Emotional Regulation Checklist ; OACIS: Ohio Autism Clinical Impressions Questionnaire; ; SPM: Sensory Processing Measure ; SRS: Social Responsive Scale VABS: Vineland Adaptative Behavior Scales; Grupo A: Started with a regular diet and then switched to a GFCF diet

Prevalência da ansiedade e depressão em pacientes com Doença Inflamatória Intestinal: Revisão Sistemática da Literatura

Prevalence of Anxiety and Depression in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Literature Review

Ana Patrícia da Silva Duarte¹, Carolina Oliveira Gorito Branco¹, Ana Maria Geraldês Rodrigues Pereira² 

¹Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

²Research Center for Active Living and Wellbeing (LiveWell), Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

*Autor correspondente/Corresponding author: amgpereira@ipb.pt

Recebido/Received: 12-01-2026; Revisto/Revised: 29-04-2026; Aceite/Accepted: 04-05-2026

Resumo

Introdução: As doenças inflamatórias intestinais são condições crónicas do aparelho digestivo, com um curso imprevisível e uma evolução prolongada. Estes pacientes lidam diariamente com sintomas como dor abdominal, diarreia crónica, artralgia e perda de peso indesejada, o que tem um impacto negativo nas suas atividades diárias, levando ao isolamento, ansiedade e depressão. **Objetivo:** Avaliar a prevalência de ansiedade e de depressão em doentes adultos com Doença Inflamatória Intestinal. **Material e Métodos:** Foi realizada uma revisão sistemática da literatura, de acordo com a metodologia PRISMA, utilizando as bases de dados *PubMed* e *Scielo*. **Resultados:** Dos 10 estudos incluídos nesta revisão sistemática, 2 (20%) avaliaram a prevalência de ansiedade e depressão nos doentes com doença de *Crohn*; 2 (20%) na colite ulcerosa e 6 (60%) na doença inflamatória intestinal. A prevalência de depressão variou entre 7,3% e 58,6%. No que respeita à ansiedade, verificou-se uma prevalência entre 14,4% e 65,7%. Na doença de *Crohn* e na colite ulcerosa, a ansiedade apresenta uma prevalência superior à depressão. Na doença inflamatória intestinal, em 50% (n=3) dos estudos releva-se que a prevalência de ansiedade era superior à de depressão nestes doentes. Assim, verificou-se que, em 70% dos estudos incluídos na presente revisão a prevalência de ansiedade em doentes com este tipo de patologias era superior à prevalência de depressão. **Conclusões:** Considerando a prevalência de ansiedade e depressão nestes indivíduos deve instituir-se um tratamento mais holístico e alinhado às necessidades físicas e psicológicas dos mesmos.

Palavras-chave: Ansiedade; Doença de *Crohn*; Doença Inflamatória Intestinal; Colite Ulcerativa; Depressão.

Abstract

Introduction: Inflammatory bowel diseases are chronic conditions of the digestive system, characterized by an unpredictable course and long-term progression. These patients deal daily with symptoms such as abdominal pain, chronic diarrhea, arthralgia, and unintentional weight loss, which negatively impact their everyday activities, leading to isolation, anxiety, and depression. **Objective:** To assess the prevalence of anxiety and depression in adult patients with Inflammatory Bowel Disease. **Material and Methods:** A systematic literature review was conducted according to PRISMA methodology, using the PubMed and Scielo databases. **Results:** Of the 10 studies included in this systematic review, 2 (20%) evaluated the prevalence of anxiety and depression in patients with Crohn's disease; 2 (20%) in ulcerative colitis; and 6 (60%) in inflammatory bowel disease. The prevalence of depression ranged from 7.3% to 58.6%. Regarding anxiety, prevalence ranged from 14.4% to 65.7%. In Crohn's disease and ulcerative colitis, anxiety showed a higher prevalence than depression. In inflammatory bowel disease, 50% (n = 3) of the studies reported that anxiety prevalence was higher than depression. Overall, in 70% of the studies included in this review, the prevalence of anxiety in patients with these conditions was higher than depression prevalence. **Conclusions:** Considering the prevalence of anxiety and depression in these individuals, a more holistic treatment approach aligned with their physical and psychological needs should be implemented.

Keywords: Anxiety; Crohn's Disease; Inflammatory Bowel Disease; Ulcerative Colitis; Depression.



1. INTRODUÇÃO

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) é um grupo de condições crônicas que afetam principalmente o trato gastrointestinal, compreendendo duas formas principais: a Doença de *Crohn* (DC) e a Colite Ulcerosa (CU) (Ashton *et al.*, 2019; Weimers & Munkholm, 2018).

Embora ambas apresentem inflamação intestinal, a DC e a CU diferem significativamente quanto ao fenótipo, extensão e progressão da doença (Torres *et al.*, 2017; Ungaro *et al.*, 2017). A DC pode envolver qualquer segmento do trato gastrointestinal, desde a cavidade oral até ao ânus (Feuerstein & Cheifetz, 2017; Torres *et al.*, 2017), sendo tipicamente caracterizada por inflamação transmural, capaz de afetar todas as camadas da parede intestinal (Fernandes *et al.*, 2024). A distribuição é frequentemente descontínua, com áreas de mucosa saudável intercaladas entre segmentos inflamados, configurando as chamadas *skip lesions*. Clinicamente, a DC manifesta-se habitualmente com dor abdominal, diarreia crônica e perda de peso, podendo evoluir para complicações estruturais como fístulas, estenoses e abscessos, sobretudo em formas mais graves ou de longa duração (Rubin *et al.*, 2020).

A CU é uma doença inflamatória crônica restrita ao cólon, caracterizada por uma inflamação contínua que se inicia no reto e progride de forma proximal, podendo envolver parte ou todo o cólon, sem atingir o intestino delgado, exceto em casos de ileíte de refluxo (Dignass *et al.*, 2012; Ungaro *et al.*, 2017). Clinicamente, a CU manifesta-se mais frequentemente por diarreia, muitas vezes acompanhada de muco ou sangue, resultante da inflamação e ulceração da mucosa do cólon. Estes episódios tendem a ser crônicos e a ocorrer em surtos, alternando períodos de exacerbação com fases de remissão. Para além disso, a doença associa-se frequentemente a dor abdominal, urgência evacuatória e, em casos mais severos, febre e perda de peso, refletindo a atividade inflamatória e o impacto sistémico da doença (Hanauer, 2006; Sartor, 2006).

A Doença Inflamatória Intestinal Não Classificada (DINC), também designada por colite indeterminada, corresponde a uma categoria diagnóstica utilizada quando os achados clínicos, endoscópicos e histológicos não permitem distinguir de forma conclusiva entre DC e CU (Geboes *et al.*, 2009). Esta condição pode evoluir ao longo do tempo para um diagnóstico mais definido, seja de DC ou CU, à medida que surgem novos sinais, sintomas ou características morfológicas mais específicas. Contudo, em alguns casos, a DINC pode manter-se indeterminada, refletindo a complexidade, a sobreposição fenotípica e a heterogeneidade das doenças inflamatórias intestinais, especialmente em populações mais jovens, onde a apresentação é frequentemente atípica ou incompleta (Shao *et al.*, 2024).

A patogénese da DII resulta de uma interação complexa entre múltiplos determinantes biológicos e ambientais, destacando-se a suscetibilidade genética, a resposta imunológica, o microbioma intestinal, a integridade do epitélio intestinal e diversos fatores ambientais (Morton *et al.*, 2020). Entre estes últimos incluem-se a dieta, o uso de antibióticos, o tabagismo, a exposição a patógenos e outros elementos do estilo de vida, que podem precipitar o aparecimento da doença ou exacerbar a sua atividade. Em indivíduos geneticamente

1. INTRODUCTION

Inflammatory Bowel Disease (IBD) is a group of chronic conditions that primarily affect the gastrointestinal tract, comprising two main forms: Crohn's Disease (CD) and Ulcerative Colitis (UC) (Ashton *et al.*, 2019; Weimers & Munkholm, 2018). Although both conditions involve intestinal inflammation, CD and UC differ significantly in terms of phenotype, disease extent, and progression (Torres *et al.*, 2017; Ungaro *et al.*, 2017). CD may involve any segment of the gastrointestinal tract, from the oral cavity to the anus (Feuerstein & Cheifetz, 2017; Torres *et al.*, 2017), and is typically characterized by transmural inflammation capable of affecting all layers of the intestinal wall (Fernandes *et al.*, 2024). The distribution is often discontinuous, with areas of healthy mucosa interspersed between inflamed segments, forming the so-called skip lesions. Clinically, CD commonly presents with abdominal pain, chronic diarrhea, and weight loss, and may progress to structural complications such as fistulas, strictures, and abscesses, particularly in more severe or long-standing forms of the disease (Rubin *et al.*, 2020).

UC is a chronic inflammatory disease restricted to the colon, characterized by continuous inflammation beginning in the rectum and progressing proximally, potentially involving part or all of the colon without affecting the small intestine, except in cases of backwash ileitis (Dignass *et al.*, 2012; Ungaro *et al.*, 2017). Clinically, UC most frequently manifests as diarrhea, often accompanied by mucus or blood, resulting from inflammation and ulceration of the colonic mucosa. These episodes tend to be chronic and occur in flare-ups, alternating with periods of exacerbation and remission. Furthermore, the disease is frequently associated with abdominal pain, urgency of defecation, and, in more severe cases, fever and weight loss, reflecting inflammatory activity and the systemic impact of the disease (Hanauer, 2006; Sartor, 2006).

Inflammatory Bowel Disease Unclassified (IBDU), also referred to as indeterminate colitis, corresponds to a diagnostic category used when clinical, endoscopic, and histological findings do not allow a conclusive distinction between CD and UC (Geboes *et al.*, 2009). This condition may evolve over time into a more defined diagnosis of either CD or UC, as new signs, symptoms, or more specific morphological features emerge. However, in some cases, IBDU may remain indeterminate, reflecting the complexity, phenotypic overlap, and heterogeneity of inflammatory bowel diseases, especially in younger populations where presentation is often atypical or incomplete (Shao *et al.*, 2024).

The pathogenesis of IBD results from a complex interaction among multiple biological and environmental determinants, including genetic susceptibility, immune response, intestinal microbiome, intestinal epithelial integrity, and various environmental factors (Morton *et al.*, 2020). These latter factors include diet, antibiotic use, smoking, exposure to pathogens, and other lifestyle-related elements that may precipitate disease onset or exacerbate disease activity. In genetically predisposed individuals, IBD arises from a dysregulated immune response directed against components of the intestinal microbiota, frequently associated with dysbiosis. Dysfunction of the epithelial barrier, characterized by increased permeability and loss of protective function, facilitates the translocation of

predispostos, a DII emerge de uma resposta imunológica desregulada dirigida contra componentes da microbiota intestinal, frequentemente associada a disbiose. A disfunção da barreira epitelial, caracterizada por aumento da permeabilidade e perda da função protetora, facilita a translocação de microrganismos e produtos microbianos, amplificando a ativação imunitária e perpetuando o ciclo inflamatório. Esta convergência de fatores culmina na inflamação crônica típica da DII, sustentada por mecanismos imunológicos inatos e adaptativos desregulados (Kim & Cheon, 2017; Zhang & Yong, 2014). Os tratamentos continuam a ser relativamente limitados e, na maioria dos casos, requerem terapêuticas farmacológicas de longa duração, essenciais para manter a remissão e prevenir exacerbações. As opções atualmente disponíveis, incluindo aminosalicilatos, corticosteroides, imunomoduladores e terapias biológicas, ainda apresentam riscos consideráveis, expondo os doentes a efeitos adversos que podem comprometer a adesão e a qualidade de vida (Rubin *et al.*, 2019; Torres *et al.*, 2017). Apesar dos avanços terapêuticos, muitos indivíduos continuam a experimentar atividade inflamatória persistente, necessidade de múltiplas linhas de tratamento e, por vezes, intervenções cirúrgicas, refletindo a natureza crônica, recidivante e imprevisível da doença. Assim, a DII exerce um impacto substancial na vida dos doentes, afetando o bem-estar físico, psicológico e social, bem como a produtividade e a participação nas atividades quotidianas (Knowles *et al.*, 2018). Sintomas como dor, limitações físicas e a frequência de exacerbações, sejam elas progressivas ou episódicas, são reconhecidos como fatores que contribuem significativamente para o impacto negativo na saúde mental e no bem-estar destes doentes. Estes elementos clínicos estão associados a um risco aumentado de ansiedade, depressão e redução da qualidade de vida, especialmente em fases de maior atividade inflamatória (Bernabeu *et al.*, 2024). A literatura demonstra que a presença de sintomas psicológicos não só agrava a percepção da doença, como também pode aumentar o risco de exacerbações e influenciar negativamente o curso clínico da DII (Gong *et al.*, 2025). Para além disso, a percepção de uma carga emocional, frequentemente associada ao carácter crônico, imprevisível e socialmente limitante da doença, pode comprometer a adesão ao tratamento, dificultando a gestão terapêutica e a recuperação, e contribuindo para piores resultados clínicos (Abdelbadee *et al.*, 2025). A interação entre esses fatores e o suporte social disponível também desempenham um papel crucial na forma como os doentes lidam com suas condições, evidenciando-se a importância de uma abordagem holística que inclua tanto os cuidados físicos quanto os psicológicos (Barberio *et al.*; 2021; Vieira, 2020).

Possíveis atrasos no diagnóstico da doença podem resultar em sofrimento acrescido e prolongado para o doente, decorrente da persistência de sintomas não controlados, da incerteza clínica e da ausência de intervenção terapêutica adequada. Estes atrasos estão associados a uma diminuição significativa da qualidade de vida, à repetição de exames invasivos e a um aumento substancial da utilização dos cuidados de saúde. Em conjunto, estes fatores contribuem para um percurso clínico mais complexo e oneroso, tanto para o doente como para o sistema de saúde (Lim *et al.*, 2023).

Além disso, muitos doentes vivem com um medo

microorganismos and microbial products, amplifying immune activation and perpetuating the inflammatory cycle. This convergence of factors culminates in the chronic inflammation characteristic of IBD, sustained by dysregulated innate and adaptive immune mechanisms (Kim & Cheon, 2017; Zhang & Yong, 2014).

Current treatments remain relatively limited and, in most cases, require long-term pharmacological therapies that are essential for maintaining remission and preventing exacerbations. The currently available options, including aminosalicylates, corticosteroids, immunomodulators, and biologic therapies, still present considerable risks, exposing patients to adverse effects that may compromise adherence and quality of life (Rubin *et al.*, 2019; Torres *et al.*, 2017). Despite therapeutic advances, many individuals continue to experience persistent inflammatory activity, the need for multiple lines of treatment, and, in some cases, surgical interventions, reflecting the chronic, relapsing, and unpredictable nature of the disease. Consequently, IBD exerts a substantial impact on patients' lives, affecting physical, psychological, and social well-being, as well as productivity and participation in daily activities (Knowles *et al.*, 2018). Symptoms such as pain, physical limitations, and the frequency of exacerbations—whether progressive or episodic—are recognized as factors that significantly contribute to the negative impact on patients' mental health and well-being. These clinical elements are associated with an increased risk of anxiety, depression, and reduced quality of life, particularly during periods of greater inflammatory activity (Bernabeu *et al.*, 2024). The literature demonstrates that the presence of psychological symptoms not only worsens disease perception but may also increase the risk of exacerbations and negatively influence the clinical course of IBD (Gong *et al.*, 2025). Furthermore, the perception of a heavy emotional burden, frequently associated with the chronic, unpredictable, and socially limiting nature of the disease, may compromise treatment adherence, hinder therapeutic management and recovery, and contribute to poorer clinical outcomes (Abdelbadee *et al.*, 2025). The interaction between these factors and the available social support also plays a crucial role in how patients cope with their conditions, highlighting the importance of a holistic approach that includes both physical and psychological care (Barberio *et al.*, 2021; Vieira, 2020).

Potential delays in diagnosis may result in increased and prolonged suffering for patients due to the persistence of uncontrolled symptoms, clinical uncertainty, and the absence of appropriate therapeutic intervention. These delays are associated with a significant reduction in quality of life, repeated invasive examinations, and a substantial increase in healthcare utilization. These factors collectively contribute to a more complex and costly clinical trajectory for both patients and healthcare systems (Lim *et al.*, 2023).

Additionally, many patients live with a persistent fear of requiring disease-related surgical interventions, including procedures that may involve the creation of a temporary or permanent ostomy, as well as concerns regarding the increased risk of neoplasms associated with chronic inflammation (Stroie *et al.*, 2023). Simultaneously, a growing number of studies have demonstrated that IBD is strongly associated with psychiatric disorders, particularly anxiety and depression (Byrne *et al.*,

persistente de necessitar de intervenções cirúrgicas relacionadas com a doença, incluindo procedimentos que podem implicar a realização de uma ostomia temporária ou permanente, bem como com a preocupação relativa ao risco aumentado de desenvolvimento de neoplasias associado à inflamação crónica (Stroie *et al.*, 2023). Paralelamente, um número crescente de estudos tem demonstrado que a DII está fortemente associada a distúrbios psiquiátricos, nomeadamente ansiedade e depressão (Byrne *et al.*, 2017). Indivíduos com história prévia de depressão apresentam uma probabilidade significativamente superior de serem posteriormente diagnosticados com DII, sugerindo uma relação bidirecional entre inflamação intestinal e saúde mental. Em comparação com a população geral, os doentes com DII apresentam um risco aproximadamente duas vezes superior de desenvolver ansiedade e depressão (Duan *et al.*, 2023). A evidência científica indica ainda que a DII, incluindo tanto a DC como a CU, está associada a taxas mais elevadas de sintomatologia ansiosa e depressiva quando comparada com indivíduos saudáveis, e que a presença de depressão se relaciona com uma redução significativa da qualidade de vida. Segundo Byrne *et al.* (2017), os transtornos depressivos estão associados a pior funcionamento global, maior morbidade e aumento da mortalidade em pessoas com doenças crónicas, o que reforça a importância de integrar a avaliação e o acompanhamento da saúde mental na gestão global da DII. A ansiedade e a depressão afetam de forma independente a qualidade de vida e levam ao comprometimento funcional do doente, embora ainda sejam problemas de saúde altamente sub diagnosticados (Alnafisah *et al.*, 2023). Este aspeto, em sinergia com o quadro clínico da DII, como resultado de sintomas sistémicos, cirurgia e efeitos colaterais de medicamentos, afetam significativamente a qualidade de vida dos indivíduos com DII (Alnafisah *et al.*, 2023), realçando-se a importância da deteção de ansiedade e depressão nestes doentes, devido ao seu impacto no prognóstico da doença (Alnafisah *et al.*, 2023). É importante identificar precocemente estas condições clínicas, incluí-las no diagnóstico da DII e tratá-las adequadamente. Foi demonstrado que receber tratamento psiquiátrico está associado à melhora não apenas da ansiedade e da depressão mas também da atividade da doença, da qualidade de vida e do funcionamento sexual. No entanto, a ansiedade e a depressão são frequentemente ignoradas medicamente e apenas uma pequena proporção de pacientes recebe cuidados médicos adequados a estas comorbidades (Stroie, *et al.*, 2023).

Os fatores psicológicos, incluindo a ocorrência de eventos de vida *major*, níveis elevados de *stress* percebido e humor depressivo, têm sido amplamente associados a um maior risco de exacerbações subsequentes em doentes com doença inflamatória intestinal (DII). A evidência demonstra que o *stress* psicológico atua como um modulador relevante da atividade inflamatória, influenciando a resposta imunitária, a permeabilidade intestinal e a composição da microbiota, mecanismos que podem contribuir para a reativação da doença. Assim, a percepção individual de *stress* constitui um fator de risco independente para recaídas, estabelecendo uma relação consistente entre *stress* e instabilidade clínica (Mawdsley & Rampton, 2005; Soares, 2017). Estudos recentes reforçam ainda que o *stress* crónico e a sintomatologia depressiva estão associados a maior atividade inflamatória, pior controlo

(2017). Individuals with a previous history of depression are significantly more likely to be subsequently diagnosed with IBD, suggesting a bidirectional relationship between intestinal inflammation and mental health. Compared with the general population, patients with IBD have approximately twice the risk of developing anxiety and depression (Duan *et al.*, 2023). Scientific evidence further indicates that IBD, including both Crohn's disease and ulcerative colitis, is associated with higher rates of anxiety and depressive symptoms when compared with healthy individuals, and that the presence of depression is related to a significant reduction in quality of life. According to Byrne *et al.* (2017), depressive disorders are associated with poorer overall functioning, greater morbidity, and increased mortality in individuals with chronic diseases, reinforcing the importance of integrating mental health assessment and follow-up into the overall management of IBD. Anxiety and depression independently affect quality of life and lead to functional impairment in patients, although they remain highly underdiagnosed health problems (Alnafisah *et al.*, 2023). This aspect, combined with the clinical manifestations of IBD, including systemic symptoms, surgery, and medication side effects, significantly affects the quality of life of individuals with IBD (Alnafisah *et al.*, 2023), highlighting the importance of detecting anxiety and depression in these patients due to their impact on disease prognosis (Alnafisah *et al.*, 2023).

It is important to identify these clinical conditions early, include them in the diagnostic process of IBD, and treat them appropriately. It has been demonstrated that receiving psychiatric treatment is associated not only with improvements in anxiety and depression, but also with improvements in disease activity, quality of life, and sexual functioning. However, anxiety and depression are often medically overlooked, and only a small proportion of patients receive adequate healthcare for these comorbidities (Stroie *et al.*, 2023).

Psychological factors, including the occurrence of major life events, high levels of perceived stress, and depressive mood, have been widely associated with an increased risk of subsequent exacerbations in patients with IBD. Evidence demonstrates that psychological stress acts as a relevant modulator of inflammatory activity by influencing immune response, intestinal permeability, and microbiota composition, mechanisms that may contribute to disease reactivation. Thus, individual stress perception constitutes an independent risk factor for relapse, establishing a consistent relationship between stress and clinical instability (Mawdsley & Rampton, 2005; Soares, 2017). Recent studies further reinforce that chronic stress and depressive symptomatology are associated with increased inflammatory activity, poorer symptom control, and greater healthcare needs (Gracie *et al.*, 2018; Mikocka-Walus *et al.*, 2016).

Addressing psychiatric comorbidities in IBD is essential, as their identification and treatment significantly contribute to improving quality of life and achieving more favorable clinical outcomes. With the evolution of the therapeutic paradigm in IBD, the focus has shifted toward a "treat-to-target" strategy, in which quality of life is recognized as one of the central therapeutic goals alongside inflammation control and prevention of complications (Singh *et al.*, 2024). This framework reinforces the need to systematically integrate the assessment

sintomático e aumento da necessidade de cuidados de saúde (Gracie *et al.*, 2018; Mikocka-Walus *et al.*, 2016).

Abordar as comorbidades psiquiátricas na DII é fundamental, uma vez que a sua identificação e tratamento contribuem de forma significativa para a melhoria da qualidade de vida e para resultados clínicos mais favoráveis. Com a evolução do paradigma terapêutico na DII, o foco tem-se deslocado para uma estratégia de “tratar para o alvo” (*treat-to-target*), na qual a qualidade de vida é reconhecida como um dos objetivos terapêuticos centrais, a par do controlo da inflamação e da prevenção de complicações (Singh *et al.*, 2024). Este enquadramento reforça a necessidade de integrar, de forma sistemática, a avaliação e o tratamento das comorbidades psiquiátricas nos cuidados prestados a estes doentes.

Deste modo, definiu-se como objetivo do presente estudo avaliar a prevalência de ansiedade e depressão em doentes adultos com doença inflamatória intestinal.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A presente revisão sistemática foi conduzida de acordo com as diretrizes PRISMA (Page *et al.*, 2021), tendo a pesquisa sido realizada entre março e abril de 2025, nas bases de dados *PubMed* e *SciELO*. Foram utilizadas as seguintes combinações de descritores “(anxiety or depression)” AND “(Crohn's Disease)”, “(anxiety or depression)” AND “(Ulcerative Colitis)” e “(anxiety or depression)” AND “(Inflammatory bowel disease)”. Foram incluídos estudos que cumprissem os seguintes critérios: participantes com idade igual ou superior a 18 anos, diagnóstico confirmado de Doença Inflamatória Intestinal, avaliação de ansiedade e/ou depressão e publicação em Português, Inglês ou Espanhol. Foram excluídas revisões sistemáticas, metanálises, editoriais, e estudos que envolvessem participantes com outras patologias associadas. A seleção dos estudos foi realizada por dois revisores de forma independente, seguindo as etapas de identificação, triagem, elegibilidade e inclusão. Sempre que surgiram discordâncias relativamente à elegibilidade dos artigos, estas foram resolvidas através de discussão entre os revisores. Quando não foi possível alcançar consenso, um terceiro revisor foi consultado, tendo a decisão final sido tomada por acordo entre os três. Este procedimento garantiu maior rigor, transparência e fiabilidade no processo de seleção dos estudos. Da pesquisa inicial foram identificados 298 artigos. Após a remoção de duplicados e dos assinalados como não elegíveis, permaneceram 281 artigos para triagem. Na fase de leitura de títulos e resumos, 46 artigos foram considerados potencialmente elegíveis. Após avaliação detalhada, 36 artigos foram excluídos por não cumprirem os critérios de inclusão, nomeadamente por incluírem amostras pediátricas ou por não responderem aos objetivos definidos para esta revisão. Assim, 10 estudos foram incluídos na análise final (Figura 1).

and treatment of psychiatric comorbidities into the care provided to these patients.

Therefore, the aim of the present study was to evaluate the prevalence of anxiety and depression in adult patients with inflammatory bowel disease.

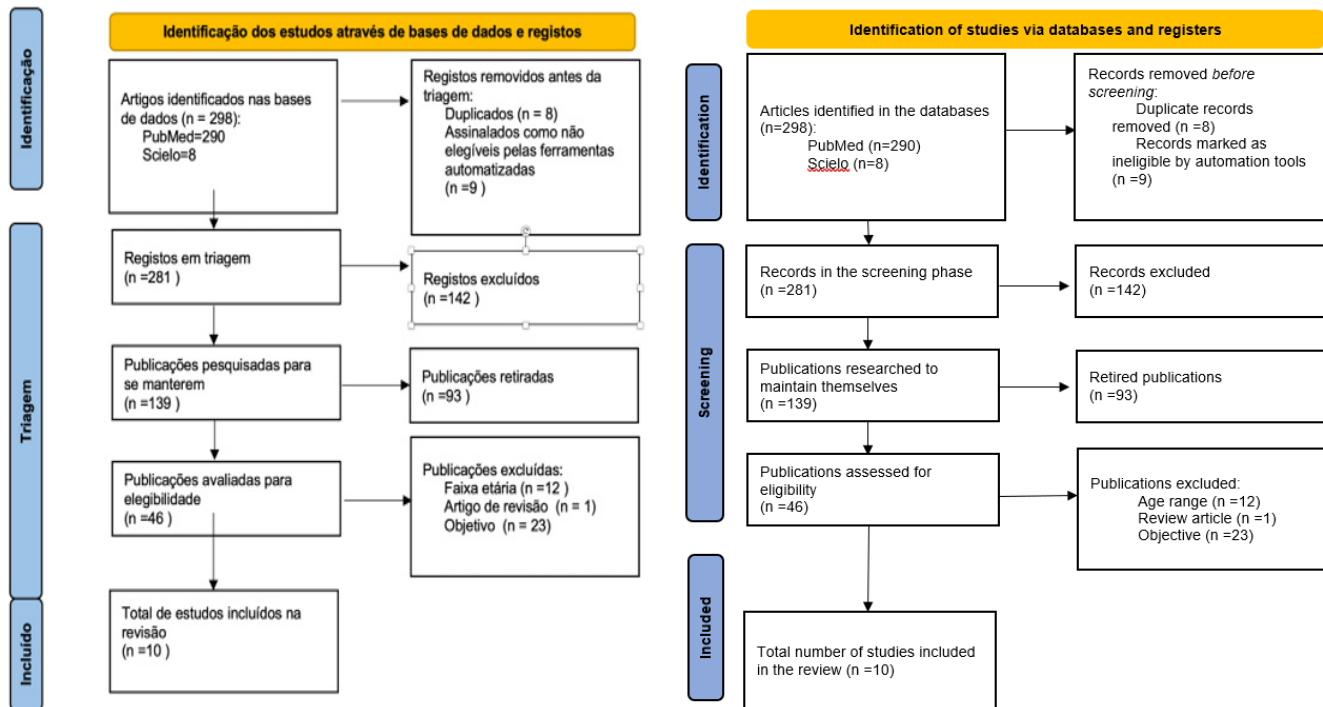
2. MATERIALS AND METHODS

This systematic review was conducted in accordance with the PRISMA guidelines (Page *et al.*, 2021), and the search was carried out between March and April 2025 in the *PubMed* and *SciELO* databases. The following combinations of descriptors were used: “(anxiety or depression)” AND “(Crohn's Disease)”, “(anxiety or depression)” AND “(Ulcerative Colitis)”, and “(anxiety or depression)” AND “(Inflammatory bowel disease)”.

Studies meeting the following criteria were included: participants aged 18 years or older, confirmed diagnosis of Inflammatory Bowel Disease, assessment of anxiety and/or depression, and publication in Portuguese, English, or Spanish. Systematic reviews, meta-analyses, editorials, and studies involving participants with other associated pathologies were excluded.

Study selection was independently performed by two reviewers following the stages of identification, screening, eligibility, and inclusion. Whenever disagreements arose regarding article eligibility, they were resolved through discussion between the reviewers. When consensus could not be reached, a third reviewer was consulted, and the final decision was made by agreement among all three reviewers. This procedure ensured greater rigor, transparency, and reliability in the study selection process.

A total of 298 articles were identified in the initial search. After removing duplicates and studies identified as ineligible, 281 articles remained for screening. During the title and abstract screening phase, 46 articles were considered potentially eligible. Following detailed evaluation, 36 articles were excluded for failing to meet the inclusion criteria, particularly due to the inclusion of pediatric samples or failure to address the objectives defined for this review. Consequently, 10 studies were included in the final analysis (Figure 1).



Figura/Figure 1: Fluxograma de seleção dos artigos/Flow diagram of study selection.

A extração de dados foi igualmente realizada por dois revisores de forma independente, utilizando grelhas padronizadas. (Tabela 1 e 2). As grelhas preenchidas foram posteriormente comparadas, e eventuais discrepâncias foram resolvidas por consenso, garantindo a fiabilidade da extração.

A avaliação da qualidade da evidência dos artigos selecionados para elaborar este artigo de revisão foi feita utilizando a ferramenta *Grelha de Avaliação Crítica dos Artigos*, adaptado por *Crombie* em 1996 (Steele et al., 2003). Esta ferramenta é composta por 16 itens, sendo que é atribuído um ponto, caso esteja presente no estudo o que o item expressa e zero pontos quando ausente ou pouco claro (Steele et al., 2003). A qualidade metodológica de cada estudo é cotada como: “baixa” entre 0 a 5 pontos, “moderada” entre 6 a 11 pontos e “alta” entre 12 a 16 pontos. Assim sendo, tendo em consideração as pontuações obtidas individualmente dos 10 artigos selecionados, verificou-se que 50% (5) apresentavam *Qualidade Moderada* e 50% (5) tinham *Alta Qualidade*. A apreciação do risco de viés baseou-se também nos critérios da *Grelha de Avaliação Crítica de Crombie*, uma vez que esta ferramenta contempla itens diretamente relacionados com potenciais fontes de viés, como a adequação da amostra, a clareza dos critérios de inclusão, a validade dos instrumentos utilizados e a transparência na apresentação dos resultados. Assim, a classificação obtida por cada estudo refletiu também o seu risco global de viés. Estudos classificados como de alta qualidade apresentam menor probabilidade de viés (Steele et al., 2003). Devido à heterogeneidade dos estudos incluídos, nomeadamente diferenças nos instrumentos de avaliação, características das amostras, e desenhos metodológicos, não foi realizada metanálise. Assim, optou-se por uma síntese descritiva estruturada, permitindo comparar as prevalências de ansiedade e depressão entre doentes com Doença de Crohn, Colite Ulcerosa e DII.

Data extraction was also independently performed by two reviewers using standardized forms (Tables 1 and 2). The completed forms were subsequently compared, and any discrepancies were resolved by consensus, ensuring the reliability of the extraction process.

The quality assessment of the evidence from the selected articles included in this review was conducted using the *Critical Appraisal Checklist* adapted by *Crombie* in 1996 (Steele et al., 2003). This tool consists of 16 items, with one point assigned when the study clearly addressed the item and zero points assigned when the item was absent or unclear (Steele et al., 2003). The methodological quality of each study was classified as follows: “low” (0–5 points), “moderate” (6–11 points), and “high” (12–16 points).

Considering the individual scores obtained from the 10 selected articles, 50% (n = 5) were classified as having *Moderate Quality*, while the remaining 50% (n = 5) were classified as *High Quality*.

The assessment of risk of bias was also based on the criteria of *Crombie’s Critical Appraisal Checklist*, as this tool includes items directly related to potential sources of bias, such as sample adequacy, clarity of inclusion criteria, validity of the instruments used, and transparency in the presentation of results. Therefore, the classification assigned to each study also reflected its overall risk of bias. Studies classified as high quality were considered less likely to present bias (Steele et al., 2003).

Due to the heterogeneity of the included studies, particularly regarding assessment instruments, sample characteristics, and methodological designs, a meta-analysis was not performed. Instead, a structured descriptive synthesis was conducted, allowing comparison of the prevalence of anxiety and depression among patients with Crohn's Disease, Ulcerative Colitis, and Inflammatory Bowel Disease overall.

3. RESULTADOS

A revisão incluiu estudos publicados entre o ano de 2018 (Tomazoni & Benvegnú 2018) e 2024 (Singh *et al.*, 2024) (Tabela 1 e 2). De acordo com os artigos selecionados, (n=7), 70% destes, eram estudos transversais (Alnafisah *et al.*, 2023; Banovic *et al.*, 2020; Cheema *et al.*, 2021; Gao *et al.*, 2023; Sneineh *et al.*, 2022; Stroie, *et al.*, 2023; Tomazoni & Benvegnú, 2018) e (n=3) 30%, estudos de coorte (Babi *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2024; Tarar *et al.*, 2023) (Tabela 1 e 2). Os mesmos foram realizados no Brasil (Tomazoni & Benvegnú 2018); França (Banovic *et al.*, 2020); China Ocidental (Gao *et al.*, 2023); Amã (Sneineh *et al.*, 2022); Arábia Saudita (Alnafisah *et al.*, 2023); Estados Unidos (Tarar, *et al.*, 2023); Bucareste (Stroie *et al.*, 2023); Austrália (Cheema *et al.*, 2021); Bósnia e Herzegovina (Babi *et al.*, 2021); Índia (Singh *et al.*, 2024) (Tabela 2).

Na presente revisão em 3 estudos (30%) foi possível constatar que o sexo mais prevalente foi o sexo masculino, com uma prevalência de 60,9% (Alnafisah *et al.*, 2023), 57,6% (Stroie *et al.*, 2023) e 52,8% (Singh *et al.*, 2024) (Tabela 1).

3. RESULTS

The review included studies published between 2018 (Tomazoni & Benvegnú, 2018) and 2024 (Singh *et al.*, 2024) (Tables 1 and 2). According to the selected articles, 70% (n = 7) were cross-sectional studies (Alnafisah *et al.*, 2023; Banovic *et al.*, 2020; Cheema *et al.*, 2021; Gao *et al.*, 2023; Sneineh *et al.*, 2022; Stroie *et al.*, 2023; Tomazoni & Benvegnú, 2018), while 30% (n = 3) were cohort studies (Babi *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2024; Tarar *et al.*, 2023) (Tables 1 and 2).

The studies were conducted in Brazil (Tomazoni & Benvegnú, 2018), France (Banovic *et al.*, 2020), Western China (Gao *et al.*, 2023), Amman (Sneineh *et al.*, 2022), Saudi Arabia (Alnafisah *et al.*, 2023), the United States (Tarar *et al.*, 2023), Bucharest (Stroie *et al.*, 2023), Australia (Cheema *et al.*, 2021), Bosnia and Herzegovina (Babi *et al.*, 2021), and India (Singh *et al.*, 2024) (Table 2).

In the present review, three studies (30%) reported that the male sex was the most prevalent, with prevalence rates of 60.9% (Alnafisah *et al.*, 2023), 57.6% (Stroie *et al.*, 2023), and 52.8% (Singh *et al.*, 2024) (Table 1).

Tabela/Table 1: Caracterização geral dos estudos incluídos na revisão sistemática/General characterization of the studies included in the systematic review

Autores (data)/ Authors (date)	Tipo de estudo/ Type of study	País/ Country	n	Idade Média/ Mean age	Sexo/ Sex	Instrumentos de recolha de dados/ Data collection instruments	Objetivo do Estudo/ Study objective
Tomazoni & Benvegnú, 2018	Estudo Transversal/ Cross-sectional study	Brasil/ Brazil	110	33±8,6 anos/years	NI	Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão (HADS) Questionário de Doença Inflamatória Intestinal/ Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS); Inflammatory Bowel Disease Questionnaire	Investigar a prevalência de sintomas de ansiedade e depressão em pacientes brasileiros com diagnóstico de doença de Crohn, bem como a sua qualidade de vida/ To investigate the prevalence of anxiety and depression symptoms in Brazilian patients diagnosed with Crohn's disease, as well as their quality of life.
Banovic et al., 2020	Estudo Transversal/ Cross-sectional study	França/ France	110	38,04 anos/years	NI	Questionários auto-relatados avaliando fadiga (FSS), atividade clínica da doença de Crohn (HBAI), sofrimento psicológico (HADS) e processamento emocional (EPS-25)/ Self-reported questionnaires assessing fatigue (FSS), Crohn's disease clinical activity (HBAI), psychological distress (HADS), and emotional processing (EPS-25).	Examinar a prevalência e o papel de fatores psicológicos específicos (ansiedade, depressão e emoções relacionadas) subjacente à fadiga relacionada à Doença de Crohn/ To examine the prevalence and the role of specific psychological factors (anxiety, depression, and emotional reported) underlying fatigue related to Crohn's disease.

Gao et al., 2023	Estudo Transversal/ Cross-sectional study	China Ocidental/ Western China	139	NI	NI	Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão (HADS) Questionário de Doença Inflamatória Intestinal (IBDQ) Composite Autonomic Symptom Score (COMPASS)-31 Escala de Gravidade da Fadiga (FSS) Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI)/ Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS); Inflammatory Bowel Disease Questionnaire (IBDQ); Composite Autonomic Symptom Score (COMPASS-31); Fatigue Severity Scale (FSS); Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI)	Analisar as características da doença, incluindo qualidade de vida, atividade da doença e alteração de monócitos/macrófagos em pacientes com colite ulcerosa e prevalência de sintomas de ansiedade/ depressão/To analyze disease characteristics, including quality of life, disease activity, and monocyte/macrophage alterations in patients with ulcerative colitis, as well as the prevalence of anxiety and depression symptoms.
Sneineh et al., 2022	Estudo Transversal/ Cross-sectional study	Amã/ Amman	70	39,3 anos/years	NI	Questionário Generalized Anxiety Disorder-7 Patient Health Questionnaire-9/ Generalized Anxiety Disorder-7 questionnaire; Patient Health Questionnaire-9	Determinar a prevalência de sintomas de ansiedade e depressão entre pacientes com colite ulcerosa e a correlação com a atividade da doença/To determine the prevalence of anxiety and depression symptoms among patients with ulcerative colitis and their correlation with disease activity.
Alnafisah et al., 2023	Estudo Descritivo Transversal	Região de Qassim, Arábia Saudita/ Qassim Region, Saudi Arabia	179	NI	NI	Questionário de Transtorno de Ansiedade Geral (TAG) Questionário de Saúde do Paciente (PHQ-9)/ Generalized Anxiety Disorder questionnaire (GAD); Patient Health Questionnaire (PHQ-9)	Descrever a prevalência e os fatores de risco de sintomas de ansiedade e depressão entre pacientes adultos hospitalizados com diagnóstico de DII/ To describe the prevalence and risk factors of anxiety and depression symptoms among hospitalized adult patients diagnosed with IBD.
Tarar et al., 2023	Estudo de coorte retrospectivo	Estados Unidos/ United States	364.535	NI	NI	Questionário/ Questionnaire	Avaliar a prevalência de depressão e ansiedade em pacientes com DII quando comparada entre indivíduos com outras condições médicas crônicas/ To assess the prevalence of depression and anxiety in IBD patients compared with individuals with other chronic medical conditions.
Stroie et al., 2023	Estudo observacional e transversal	Romênia/Fundeni Clinical Institute, Bucareste/ Romania, Fundeni Clinical Institute, Bucharest	132	38 anos/years	M= 76 F= 56	HADS, Avaliação Funcional da Terapia de Doença Crônica-Fadiga e IBDQ 32/ HADS; Functional Assessment of Chronic Illness Therapy- Fatigue (FACIT-F); IBDQ-32	Avaliar a prevalência e a gravidade da ansiedade e da depressão em pacientes com DII inativa e identificar os fatores associados/ To evaluate the prevalence and severity of anxiety and depression in patients with inactive IBD and identify associated factors.
Cheema et al., 2021	Estudo Transversal/ Cross-sectional study	Austrália/ Australia	352	40 anos/years	M= 74 F= 278	Questionário Depression, Anxiety, Stress Scale-21 (DASS21)/ Depression, Anxiety, Stress Scale-21 (DASS-21) questionnaire	Quantificar o stress, a ansiedade e a depressão entre indivíduos com doença inflamatória intestinal (DII)/ To quantify stress, anxiety, and depression among individuals with inflammatory bowel disease (IBD).
Babi et al., 2021	Estudo Prospetivo	Bósnia e Herzegovina/ Bosnia and Herzegovina	112	NI	NI	Escala de avaliação de ansiedade de Hamilton (HAM-A) Teste de classificação de Hamilton para depressão (HAM-D)/ Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A); Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D)	Estabelecer a prevalência e o nível de ansiedade e depressão na DII. Comparar ansiedade e depressão em pacientes com DII com uma amostra adequadamente combinada da população em geral/ To establish the prevalence and level of anxiety and depression in IBD, and to compare anxiety and depression in IBD patients with a properly matched sample from the general population.

Singh et al., 2024	Estudo de Coorte Observacional Transversal	India/ India	318	40,13±12,06 anos/years	M= 168 F= 150	Questionários da Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão (HADS) Escala de Stress Percebido (PSS)/ Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS); Perceived Stress Scale (PSS)	Verificar a prevalência de ansiedade, depressão e stress percebido em pacientes com DII/To determine the prevalence of anxiety, depression, and perceived stress in patients with IBD.
Legenda/Legend: M: Masculino; F: Feminino; NI: Não Identificado/ M: Male; F: Female; NI: Not identified.							

Tabela/Table 2: Caracterização da prevalência da Ansiedade e Depressão nas diferentes Doenças Inflamatórias Intestinais/Characterization of the prevalence of anxiety and depression in different Inflammatory Bowel Diseases.

Autores (data)/ Authors (date)	Prevalência de ansiedade e depressão/		
	Doença de Crohn (DC)/ Crohn's disease (CD)	Colite Ulcerativa (CU)/ Ulcerative colitis (UC)	Doença Inflamatória Intestinal (DII)/ Inflammatory bowel disease (IBD)
Tomazoni & Benvegnú, 2018	14,4% Ansiedade/Anxiety 7,3% Depressão/Depression	----	----
Banovic et al., 2020	69,09% Ansiedade/ 45,45% Depressão/Depression	----	----
Gao et al., 2023	----	37,41% Ansiedade/Anxiety 32,37% Depressão/Depression	----
Sneineh et al., 2022	----	65,7% Ansiedade/Anxiety 58,6% Depressão/Depression	----
Alnafisah et al., 2023	----	----	17,3% Ansiedade/Anxiety 19,6% Depressão/Depression
Tarar et al., 2023	----	----	16,9% Ansiedade/Anxiety 20,93% Depressão/Depression
Stroie et al., 2023	----	----	34,1% Ansiedade/Anxiety 18,2% Depressão/Depression
Cheema et al., 2021	----	----	32% Ansiedade/Anxiety 34,9% Depressão/Depression
Babi et al., 2021	----	----	(Com DII)/ (With IBD) 41,9% Ansiedade/Anxiety 39,3% Depressão/Depression
			(Sem DII)/(Without IBD) 16,4% Ansiedade/Anxiety 15,6% Depressão/Depression
Singh et al., 2024	----	----	14,1% Ansiedade/Anxiety 12,2% Depressão/Depression
Legenda/Legend: DC: Doença de Crohn; CU: Colite Ulcerativa; DII: Doença Inflamatória Intestinal/DC: Crohn's disease; UC: Ulcerative colitis; IBD: Inflammatory Bowel Disease.			

Verificou-se ainda que, o instrumento de avaliação mais usado para avaliar o nível de ansiedade e depressão dos doentes com este tipo de doenças foi o questionário HADS (Escala de Ansiedade e Depressão Hospitalar) utilizado em 50% dos artigos (n= 5) (Banovic et al., 2020; Gao et al., 2023; Singh et al., 2024; Stroie et al., 2023; Tomazoni & Benvegnú, 2018), em 40 % dos artigos (n= 4) a ansiedade e a depressão foi avaliada em todos com ferramentas distintas, nomeadamente: *Generalized Anxiety Disorder-7*; *Patient Health Questionnaire-9*, Questionário de Transtorno de Ansiedade Geral (TAG); Questionário de Saúde do Paciente (PHQ-9), *Depression, Anxiety, Stress Score-21*, DASS21, Escala de Avaliação de Ansiedade de Hamilton (HAM-A) e pelo Teste de Classificação de Hamilton para Depressão (HAM-D) (Alnafisah et al., 2023; Babi et al., 2021; Cheema et al., 2021; Sneineh et al., 2022). Contudo, somente 10% dos artigos (n= 1), refere apenas que, foi usado um

It was also observed that the most frequently used instrument for assessing anxiety and depression levels in patients with these conditions was the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS), used in 50% of the articles (n = 5) (Banovic et al., 2020; Gao et al., 2023; Singh et al., 2024; Stroie et al., 2023; Tomazoni & Benvegnú, 2018). In 40% of the articles (n = 4), anxiety and depression were assessed using different instruments, namely the Generalized Anxiety Disorder-7 (GAD-7), Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9), Depression Anxiety Stress Scale-21 (DASS-21), Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A), and Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D) (Alnafisah et al., 2023; Babi et al., 2021; Cheema et al., 2021; Sneineh et al., 2022). However, only 10% of the articles (n = 1) merely reported that a questionnaire was used to assess anxiety and depression in patients (Tarar et al., 2023) (Table 1).

questionário para avaliar a Ansiedade e a Depressão dos doentes (Tarar *et al.*, 2023) (Tabela 1).

De acordo com os resultados obtidos nos diferentes estudos selecionados, nos dois estudos referentes à DC, verifica-se um estudo com uma prevalência de 7,3% dos doentes com depressão e 14,4% com ansiedade (Tomazoni & Benvegnú, 2018), já no outro estudo afeto à DC verificou-se uma prevalência de 69,09% e 45,45% para a ansiedade e para a depressão, respetivamente (Banovic *et al.*, 2020) (Tabela 2). Na CU a prevalência de ansiedade foi de 37,41% e de depressão foi 32,37% no estudo de Gao *et al.*, (2023) e no estudo de Sneath *et al.*, (2022) a prevalência de ansiedade foi de 65,7% e de depressão 58,6% (Tabela 2).

No que concerne à DII foram selecionados 6 estudos onde se verificaram prevalências de 17.3% para a ansiedade e de 19.6% para a depressão (Alnafisah *et al.*, 2023), 16.9% para ansiedade e 20.93% para a depressão (Tarar *et al.*, 2023), 34,1% para ansiedade e 18,2% para depressão (Stroie *et al.*, 2023), uma percentagem de 32% ansiedade e de 34,9% para a depressão (Cheema *et al.*, 2021). No estudo de Babi *et al.*, (2021) verificou-se, uma prevalência de 41,9% para a ansiedade e de 39,3% para a depressão. No estudo de Singh *et al.*, (2024) evidenciou-se uma prevalência de 14,1% para a ansiedade e de 12,2% para a depressão (Tabela 2).

É importante referir ainda que, na DC, a totalidade dos estudos selecionados (n= 2; 100%), a ansiedade apresenta prevalência superior à depressão nestes doentes (Banovic *et al.*, 2020; Tomazoni & Benvegnú, 2018), constatando-se o mesmo na CU (Gao *et al.*, 2023; Sneath *et al.*, 2022). Já na DII dos estudos analisados (n= 6; 100%), em 50% (n= 3) dos estudos é possível verificar que a prevalência de ansiedade é superior à de depressão nestes doentes (Alnafisah *et al.*, 2023; Cheema *et al.*, 2021; Tarar *et al.*, 2023) e que nos outros 50% (n= 3), a prevalência de depressão era superior à da ansiedade (Babi *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2024; Stroie *et al.*, 2023). Assim, verificamos que, em 70% dos estudos incluídos na presente revisão a prevalência de ansiedade em doentes com este tipo de patologias era superior à prevalência de depressão (Arshdeep Singh *et al.*, 2024; Babi *et al.*, 2021; Banovic *et al.*, 2020; Gao *et al.*, 2023; Sneath *et al.*, 2022; Stroie *et al.*, 2023; Tomazoni & Benvegnú, 2018) (Tabela 2).

Do total de estudos incluídos na presente revisão, apenas num estudo (10%) (Babi *et al.*, 2021), se verifica a comparação entre duas amostras distintas, constatando-se diferenças estatisticamente significativas, onde a prevalência de ansiedade e depressão é superior em doentes com este tipo de patologia aquando comparados com indivíduos sem qualquer tipo de patologia associada. Foi possível observar ainda que, o estudo de Stroie *et al.*, (2023), refere que, as mulheres com DII têm uma maior probabilidade de apresentar sintomas de ansiedade e depressão do que os homens. Todos os estudos, concluíram que, a presença destas duas comorbidades afeta de forma significativa o tratamento da doença e promove uma sintomatologia mais persistente, afetando a qualidade de vida dos doentes (Alnafisah *et al.*, 2023; Babi *et al.*, 2021; Banovic *et al.*, 2020; Cheema *et al.*, 2021; Gao *et al.*, 2023; Singh *et al.*, 2024; Sneath *et al.*, 2022; Stroie *et al.*, 2023; Tarar *et al.*, 2023; Tomazoni & Benvegnú, 2018).

According to the results obtained from the different selected studies, among the two studies related to Crohn's Disease, one study reported a prevalence of 7.3% for depression and 14.4% for anxiety (Tomazoni & Benvegnú, 2018), whereas the other study on CD reported prevalence rates of 69.09% for anxiety and 45.45% for depression (Banovic *et al.*, 2020) (Table 2).

Regarding Ulcerative Colitis, the prevalence of anxiety was 37.41% and depression was 32.37% in the study by Gao *et al.* (2023), whereas in the study by Sneath *et al.* (2022), the prevalence of anxiety was 65.7% and depression was 58.6% (Table 2).

Concerning Inflammatory Bowel Disease overall, six studies were selected in which prevalence rates of 17.3% for anxiety and 19.6% for depression were observed (Alnafisah *et al.*, 2023), 16.9% for anxiety and 20.93% for depression (Tarar *et al.*, 2023), 34.1% for anxiety and 18.2% for depression (Stroie *et al.*, 2023), and 32% for anxiety and 34.9% for depression (Cheema *et al.*, 2021). In the study by Babi *et al.* (2021), a prevalence of 41.9% for anxiety and 39.3% for depression was identified. In the study by Singh *et al.* (2024), prevalence rates of 14.1% for anxiety and 12.2% for depression were reported (Table 2).

It is also important to note that, in CD, all selected studies (n = 2; 100%) demonstrated that anxiety had a higher prevalence than depression among these patients (Banovic *et al.*, 2020; Tomazoni & Benvegnú, 2018), with the same pattern observed in UC (Gao *et al.*, 2023; Sneath *et al.*, 2022).

Regarding IBD overall, the analyzed studies (n = 6; 100%), 50% (n = 3) demonstrated that anxiety prevalence was higher than depression prevalence in these patients (Alnafisah *et al.*, 2023; Cheema *et al.*, 2021; Tarar *et al.*, 2023), while in the remaining 50% (n = 3), depression prevalence was higher than anxiety prevalence (Babi *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2024; Stroie *et al.*, 2023).

Thus, it was observed that in 70% of the studies included in the present review, the prevalence of anxiety in patients with these pathologies was higher than the prevalence of depression (Singh *et al.*, 2024; Babi *et al.*, 2021; Banovic *et al.*, 2020; Gao *et al.*, 2023; Sneath *et al.*, 2022; Stroie *et al.*, 2023; Tomazoni & Benvegnú, 2018) (Table 2).

Among all studies included in the present review, only one study (n = 1; 10%) (Babi *et al.*, 2021) compared two distinct samples: patients with the disease and healthy individuals. Statistically significant differences were identified, demonstrating that the prevalence of anxiety and depression was higher in patients with these conditions when compared with individuals without any associated pathology.

It was also observed that the study by Stroie *et al.* (2023) reported that women with IBD were more likely to present symptoms of anxiety and depression than men.

All studies concluded that the presence of these two comorbidities significantly affects disease treatment and promotes more persistent symptomatology, negatively impacting patients' quality of life (Alnafisah *et al.*, 2023; Babi *et al.*, 2021; Banovic *et al.*, 2020; Cheema *et al.*, 2021; Gao *et al.*, 2023; Singh *et al.*, 2024; Sneath *et al.*, 2022; Stroie *et al.*, 2023; Tarar *et al.*, 2023; Tomazoni & Benvegnú, 2018).

4. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos que evidenciam uma prevalência de sintomatologia depressiva entre 7,3% e 58,6% e de ansiedade entre 14,4% e 65,7%, alinham-se com a literatura revista que descreve uma carga substancial de perturbações psicológicas em indivíduos com DII. A amplitude destes intervalos é consistente com o que tem sido reportado em revisões sistemáticas e meta-análises, que apontam para uma variabilidade significativa entre estudos (Bisgaard *et al.*, 2022; Hu *et al.*, 2021; Massironi *et al.*, 2025). Esta heterogeneidade é frequentemente atribuída a diferenças ao nível dos procedimentos metodológicos; nomeadamente o tipo de instrumento utilizado (rastreamento vs. diagnóstico), os pontos de corte adotados, o desenho do estudo e o contexto clínico, bem como às características da amostra, incluindo idade, género, tipo de DII e estado da doença (remissão vs. atividade) (Massironi *et al.*, 2025). Após avaliados os estudos conclui-se que, a prevalência de ansiedade em doentes com este tipo de patologias era superior à prevalência de depressão. (n= 7; 70%) (Arshdeep Singh *et al.*, 2024; Babi *et al.*, 2021; Banovic *et al.*, 2020; Gao *et al.*, 2023; Sneineh *et al.*, 2022; Stroie *et al.*, 2023; Tomazoni & Benvegnú, 2018).

Segundo Santos *et al.*, (2023), a prevalência de sintomas depressivos na DII e os seus subtipos pode atingir 68% dos indivíduos, enquanto na ansiedade pode alcançar 80%. Segundo os mesmos autores, os indivíduos com DII têm duas a quatro vezes mais probabilidade de desenvolver transtornos depressivos ao longo da vida e três a cinco vezes mais probabilidade de desenvolver algum transtorno de ansiedade, comparativamente à população em geral.

Dos artigos que avaliaram a DC (n=2; 20%) observou-se uma prevalência mínima de ansiedade de 14,4% (Tomazoni & Benvegnú, 2018) e uma prevalência máxima de 69,09% (Banovic, 2020), para a depressão, verificou-se uma prevalência mínima de 7,3% (Tomazoni & Benvegnú, 2018), e uma prevalência máxima de 45,45% (Banovic, 2020). Outros estudos realizados revelam valores de 56% para a ansiedade e 28% para a depressão corroborando os resultados encontrados (Lima, 2012).

Relativamente à CU (n=2; 20%), encontrados-se um valor máximo para a ansiedade de 65,7% (Sneineh, 2022), e um valor mínimo de 37,41% (Gao, 2023). Sobre a depressão, os estudos selecionados demonstram uma prevalência máxima de depressão igual a 58,6%, (Sneineh, 2022), e uma prevalência mínima de 32,37% (Gao, 2023).

O estudo de Xiaomin, (2021), corrobora os resultados, visto que as prevalências observadas no estudo deste autor, encontram-se dentro dos valores aproximados na presente revisão. Xiaomin, (2021), refere no seu estudo uma prevalência de 50% e 58% para a ansiedade e depressão respetivamente, em doentes com CU. Min *et al.* (2019), referem que, além dos sintomas intestinais característicos como, a diarreia, sangue e mucos nas fezes, a CU pode manifestar-se através de sintomas extraintestinais como, insuficiência renal e manifestações vasculares, desencadeando nos indivíduos quadros clínicos de ansiedade e depressão.

No que concerne à prevalência de depressão e ansiedade encontrada no presente estudo em doentes com DII diagnosticada, o estudo de Byrne, (2017) vai ao encontro dos resultados obtidos. Resultados similares obtiveram Franco *et al.*,

4. DISCUSSION

The results obtained, demonstrating a prevalence of depressive symptomatology ranging from 7.3% to 58.6% and anxiety ranging from 14.4% to 65.7%, are consistent with the reviewed literature describing a substantial burden of psychological disorders among individuals with Inflammatory Bowel Disease (IBD). The wide range of these values is consistent with findings reported in systematic reviews and meta-analyses, which indicate significant variability across studies (Bisgaard *et al.*, 2022; Hu *et al.*, 2021; Massironi *et al.*, 2025). This heterogeneity is often attributed to differences in methodological procedures, namely the type of instrument used (screening versus diagnostic), the cut-off points adopted, study design, and clinical context, as well as sample characteristics, including age, sex, type of IBD, and disease status (remission versus active disease) (Massironi *et al.*, 2025).

After evaluating the selected studies, it was concluded that the prevalence of anxiety in patients with these pathologies was higher than the prevalence of depression in 70% of the studies included (n = 7) (Singh *et al.*, 2024; Babi *et al.*, 2021; Banovic *et al.*, 2020; Gao *et al.*, 2023; Sneineh *et al.*, 2022; Stroie *et al.*, 2023; Tomazoni & Benvegnú, 2018).

According to Santos *et al.* (2023), the prevalence of depressive symptoms in IBD and its subtypes may reach up to 68% of individuals, while anxiety prevalence may reach 80%. According to the same authors, individuals with IBD are two to four times more likely to develop depressive disorders throughout life, and three to five times more likely to develop anxiety disorders when compared with the general population.

Among the articles assessing Crohn's Disease (n = 2; 20%), a minimum anxiety prevalence of 14.4% (Tomazoni & Benvegnú, 2018) and a maximum prevalence of 69.09% (Banovic *et al.*, 2020) were observed. Regarding depression, a minimum prevalence of 7.3% (Tomazoni & Benvegnú, 2018) and a maximum prevalence of 45.45% (Banovic *et al.*, 2020) were identified. Other studies have reported prevalence values of 56% for anxiety and 28% for depression, corroborating the findings reported by Lima (2012).

Regarding Ulcerative Colitis (n = 2; 20%), a maximum anxiety prevalence of 65.7% (Sneineh *et al.*, 2022) and a minimum prevalence of 37.41% (Gao *et al.*, 2023) were observed. Concerning depression, the selected studies demonstrated a maximum prevalence of 58.6% (Sneineh *et al.*, 2022) and a minimum prevalence of 32.37% (Gao *et al.*, 2023).

The study by Xiaomin (2021) corroborates these findings, as the prevalence rates observed in that study fall within the approximate values identified in the present review. Xiaomin (2021) reported prevalence rates of 50% and 58% for anxiety and depression, respectively, among patients with UC. Min *et al.* (2019) further noted that, in addition to characteristic intestinal symptoms such as diarrhea, blood, and mucus in stools, UC may manifest through extraintestinal symptoms such as renal insufficiency and vascular manifestations, triggering anxiety and depression in affected individuals.

Regarding the prevalence of depression and anxiety found in the present study among patients diagnosed with IBD, the study by Byrne (2017) is consistent with the results

(2022) no seu estudo onde referem uma prevalência de 36,7% para a ansiedade e 15,6% para a depressão em doentes com DII.

Os sintomas mais prevalentes na DII incluem a diarreia e a dor abdominal, sendo o controlo da doença com medicamentos anti-inflamatórios, corticosteroides e produtos biológicos e possível cirurgia, caso o tratamento farmacológico não surta o efeito esperado ou devido a complicações associadas à progressão da doença (Morton, 2020). Santos, (2020), destaca ainda que, indivíduos com DII poderão ter complicações decorrentes como estenoses e fístulas, o que condicionam a sua qualidade de vida. A prevalência de ansiedade em indivíduos com Doença Inflamatória Intestinal (DII) tende a ser superior à da depressão devido a diversos fatores, que podem ser categorizados em aspetos biológicos, psicológicos e sociais. A inflamação crónica característica da DII pode afetar diretamente o sistema nervoso central através do eixo intestino-cérebro. A produção constante de citocinas inflamatórias pode influenciar neurotransmissores como a serotonina e a dopamina, que estão diretamente associados à regulação do humor e da ansiedade. A ligação entre inflamação e ansiedade parece ser mais pronunciada do que com a depressão (Ben et al., 2012; Mikocka-Walus et al., 2016). Os sintomas físicos da DII, como a dor abdominal e a urgência intestinal, são muitas vezes imprevisíveis e podem limitar atividades diárias. A constante preocupação com potenciais exacerbações dos sintomas pode gerar níveis elevados de ansiedade. Embora esses fatores possam contribuir para a depressão, a ansiedade tende a ser mais imediata e prevalente devido à natureza inconstante dos sintomas. O medo constante de recaídas, necessidade de hospitalizações, ou intervenções cirúrgicas pode gerar um estado de hipervigilância, o que contribui significativamente para a ansiedade. A imprevisibilidade dos sintomas e possíveis complicações é um fator que aumenta o nível de *stress*, sendo a ansiedade uma resposta comum (Barberio et al., 2021). Os fatores psicossociais e estigma podem também justificar a prevalência superior de ansiedade, onde fatores como a urgência para ir à casa de banho e o uso frequente de medicamentos podem intensificar sentimentos de ansiedade relacionados com a aceitação social e a integração na vida profissional (Halloran et al., 2021). O suporte social desempenha um papel crucial na gestão de doenças crónicas. Indivíduos com DII que percebem um baixo suporte social ou se sentem incompreendidos podem desenvolver níveis mais elevados de ansiedade, devido à sensação de solidão na gestão dos sintomas.

A depressão tende a emergir em contextos de menor suporte social e de vulnerabilidade emocional prolongada, enquanto a ansiedade se manifesta de forma mais reativa perante acontecimentos adversos específicos ou situações percebidas como ameaçadoras (Graff et al., 2006). Morton, (2020), refere ainda que muitas vezes existe renitência por parte destes doentes no que diz respeito ao tratamento e à mudança, criando mais *stress*, ansiedade e depressão.

Em 10% dos estudos verificou-se uma análise comparativa entre um grupo que detinha indivíduos saudáveis e indivíduos com DII, verificando-se que a prevalência de distúrbios psicológicos como a ansiedade e a depressão em indivíduos com diagnóstico de DII ou algum dos seus subtipos, como é o caso da DC e da CU, era superior à prevalência de ansiedade e de depressão em indivíduos, sem DII ou qualquer um dos seus

obtidos. Similar findings were reported by Franco *et al.* (2022), who identified prevalence rates of 36.7% for anxiety and 15.6% for depression in patients with IBD.

The most prevalent symptoms in IBD include diarrhea and abdominal pain, and disease management generally involves anti-inflammatory drugs, corticosteroids, biologic therapies, and, in some cases, surgery when pharmacological treatment fails or when complications associated with disease progression occur (Morton, 2020). Santos (2020) further highlights that individuals with IBD may develop complications such as strictures and fistulas, which substantially compromise quality of life. The prevalence of anxiety among individuals with IBD tends to be higher than that of depression due to several biological, psychological, and social factors. The chronic inflammation characteristic of IBD may directly affect the central nervous system through the gut-brain axis. The continuous production of inflammatory cytokines may influence neurotransmitters such as serotonin and dopamine, which are directly associated with mood and anxiety regulation. The relationship between inflammation and anxiety appears to be more pronounced than that observed with depression (Ben *et al.*, 2012; Mikocka-Walus *et al.*, 2016). Physical symptoms of IBD, such as abdominal pain and intestinal urgency, are often unpredictable and may limit daily activities. Constant concern regarding potential symptom exacerbations may generate high levels of anxiety. Although these factors may also contribute to depression, anxiety tends to be more immediate and prevalent due to the fluctuating nature of symptoms. The constant fear of relapses, hospitalizations, or surgical interventions may induce a state of hypervigilance, significantly contributing to anxiety. The unpredictability of symptoms and possible complications increases stress levels, making anxiety a common response (Barberio *et al.*, 2021). Psychosocial factors and stigma may also justify the higher prevalence of anxiety, as factors such as urgency to use the bathroom and frequent medication use may intensify feelings of anxiety related to social acceptance and integration into professional life (Halloran *et al.*, 2021). Social support plays a crucial role in the management of chronic diseases. Individuals with IBD who perceive low social support or feel misunderstood may develop higher levels of anxiety due to feelings of loneliness in managing their symptoms.

Depression tends to emerge in contexts of lower social support and prolonged emotional vulnerability, whereas anxiety manifests more reactively in response to specific adverse events or situations perceived as threatening (Graff *et al.*, 2006). Morton (2020) further reports that these patients frequently demonstrate resistance regarding treatment and lifestyle changes, thereby generating additional stress, anxiety, and depression.

In 10% of the studies included, a comparative analysis was performed between a group of healthy individuals and individuals with IBD, demonstrating that the prevalence of psychological disorders such as anxiety and depression among individuals diagnosed with IBD or its subtypes, namely CD and UC, was higher than among individuals without IBD or any of its subtypes (Babi *et al.*, 2021). The literature supports these findings, demonstrating a higher prevalence of anxiety

subtipos diagnosticados (Babi, 2021). A literatura corrobora os resultados apresentados, verificando-se uma maior prevalência de ansiedade, em indivíduos com DII em comparação com grupos controle (Galvão, 2019; Santos, 2020; Vieira, 2020).

O estudo de Sneineh *et al.*, (2022) revelou que as mulheres com DII têm uma maior probabilidade de apresentar sintomas de ansiedade e depressão, do que os homens, resultado corroborado por outros estudos (Kinrys, 2005; Falcão, 2016; Melchior, 2020; Souza, 2022). Tal facto pode ser justificado pelos níveis mais elevados de marcadores inflamatórios, neurotróficos e serotoninérgicos, diferenças no perfil hormonal e fatores socioculturais, como a desigualdade de género, que podem explicar a maior sintomatologia depressiva nas mulheres, uma vez que se verifica um maior impacto destes fatores no perfil das mesmas (Souza, 2022).

Todos os estudos concluíram que, a presença destas duas comorbidades afeta de forma significativa o tratamento da doença e promove uma sintomatologia mais persistente, afetando a qualidade de vida dos doentes. Segundo Stachechem (2021), considerando a incurabilidade da doença e a sintomatologia associada, é natural que estes doentes desenvolvam transtornos mentais, como é o caso da ansiedade e da depressão, que muitas vezes influenciam de forma negativa o prognóstico da doença e o agravamento dos sintomas.

Batista (2018) refere que os fatores psicológicos assumem um papel de destaque ao longo do curso da doença, existindo evidências consistentes, de que as emoções exercem um impacto significativo sobre as DII. Está bem estabelecido que determinadas condições psicológicas, como ansiedade e depressão, frequentemente desencadeadas pelos sintomas, limitações e estigmas associados à doença e aos seus subtipos, DC e CU, influenciam tanto a motilidade gastrointestinal como a resposta imunológica, com maior expressão durante períodos de atividade inflamatória. Estas alterações psicobiológicas contribuem para a intensificação dos sintomas, reforçando a natureza bidirecional da interação entre o eixo cérebro-intestino e a evolução clínica das DII. Assim, as emoções podem intensificar os sintomas da doença e contribuir para o seu ressurgimento. Para além disso, a DII compromete de forma significativa a qualidade e a expectativa de vida dos doentes, traduzindo-se num impacto social e psicológico particularmente relevante (Batista, 2018). De acordo com Neves (2015), este fenómeno pode ser explicado pelo facto de o estado psicológico e emocional influenciar de maneira substancial a frequência e a gravidade das crises, agravando a experiência subjetiva da doença e reduzindo a qualidade de vida destes indivíduos.

É ainda referido que os indivíduos com diagnóstico de DII experienciam um marcado decréscimo na sua qualidade de vida, frequentemente acompanhado de perdas ocupacionais que afetam, de forma significativa, a sua autoimagem, a perceção do corpo, as relações pessoais e familiares, bem como aspetos ligados à fertilidade e ao planeamento familiar. Neves (2015), descreve que a preocupação constante dos doentes constitui um fator determinante que influencia negativamente o curso dos tratamentos, contribuindo para maior instabilidade clínica e emocional. Leite (2020), reforça esta perspetiva ao salientar que é facilmente compreensível o impacto físico substancial da DII na saúde dos doentes e, sobretudo, na sua qualidade de vida. Os

in individuals with IBD compared with control groups (Galvão, 2019; Santos, 2020; Vieira, 2020).

The study by Sneineh *et al.* (2022) revealed that women with IBD were more likely to present symptoms of anxiety and depression than men, a finding corroborated by other studies (Kinrys, 2005; Falcão, 2016; Melchior, 2020; Souza, 2022). This may be explained by higher levels of inflammatory, neurotrophic, and serotonergic markers, hormonal profile differences, and sociocultural factors such as gender inequality, which may account for the greater depressive symptomatology observed among women due to the stronger impact of these factors on female populations (Souza, 2022).

All studies concluded that the presence of these two comorbidities significantly affects disease treatment and promotes more persistent symptomatology, negatively affecting patients' quality of life. According to Stachechem (2021), considering the incurable nature of the disease and its associated symptomatology, it is natural for these patients to develop mental disorders such as anxiety and depression, which frequently negatively influence disease prognosis and symptom worsening.

Batista (2018) states that psychological factors play a prominent role throughout the disease course, and consistent evidence demonstrates that emotions exert a significant impact on IBD. It is well established that certain psychological conditions, such as anxiety and depression—often triggered by symptoms, limitations, and stigmas associated with the disease and its subtypes, CD and UC—influence both gastrointestinal motility and immune response, particularly during periods of inflammatory activity. These psychobiological alterations contribute to symptom intensification, reinforcing the bidirectional nature of the interaction between the gut-brain axis and the clinical evolution of IBD. Thus, emotions may intensify disease symptoms and contribute to disease recurrence. Furthermore, IBD significantly compromises patients' quality of life and life expectancy, resulting in a particularly relevant social and psychological burden (Batista, 2018). According to Neves (2015), this phenomenon may be explained by the fact that psychological and emotional states substantially influence the frequency and severity of disease flare-ups, worsening the subjective experience of the disease and reducing individuals' quality of life.

It is also reported that individuals diagnosed with IBD experience a marked decline in quality of life, frequently accompanied by occupational losses that significantly affect self-image, body perception, personal and family relationships, as well as aspects related to fertility and family planning. Neves (2015) describes patients' constant concern as a determining factor that negatively influences treatment outcomes, contributing to greater clinical and emotional instability. Leite (2020) reinforces this perspective by emphasizing the substantial physical impact of IBD on patients' health and, particularly, on their quality of life. Psychiatric disorders such as anxiety and depression frequently arise as a consequence of disease progression, and the degree of psychological distress is directly related to the severity of inflammatory activity. Consequently, the interaction between physical symptoms and emotional suffering contributes to a cycle of

transtornos psiquiátricos, como ansiedade e depressão, surgem frequentemente como consequência do curso da doença, sendo que o grau de angústia e de perturbação psicológica apresenta uma relação direta com a severidade da atividade inflamatória. Assim, a interação entre sintomas físicos e sofrimento emocional contribui para um ciclo de agravamento mútuo, reforçando a necessidade de uma abordagem integrada e multidimensional no acompanhamento destes doentes.

O presente estudo oferece um contributo relevante ao reunir e analisar de forma sistemática investigações recentes que avaliam ansiedade e depressão em adultos com DII. A presente revisão permite identificar tendências consistentes, nomeadamente a maior prevalência de ansiedade em comparação com a depressão, e clarificar diferenças entre subtipos de DII. Esta revisão oferece uma visão comparativa e estruturada sobre o impacto psicológico da DII, reforçando a necessidade de incorporar a avaliação sistemática da saúde mental na prática clínica e de desenvolver abordagens terapêuticas mais abrangentes e multidisciplinares.

Este estudo apresenta algumas limitações que devem ser consideradas na interpretação dos resultados. Em primeiro lugar, verificou-se uma heterogeneidade entre os estudos incluídos, tanto ao nível dos instrumentos utilizados para avaliar ansiedade e depressão como no que respeita às características das amostras e ao desenho metodológico. Esta variabilidade dificultou a comparação direta entre estudos e impossibilitou a realização de uma metanálise, conduzindo à necessidade de uma síntese descritiva. Adicionalmente, os estudos incluídos recorreram a instrumentos distintos de avaliação psicológica, cada um com diferentes pontos de corte, sensibilidade e especificidade. Esta diversidade metodológica pode ter influenciado as prevalências reportadas, contribuindo para a amplitude dos valores observados. Outra limitação prende-se com o facto de a avaliação do risco de viés ter sido realizada de forma narrativa, baseada na Grelha de Avaliação Crítica de Crombie. Assim, a interpretação do risco de viés deve ser entendida no contexto de uma revisão descritiva. A maioria dos estudos incluídos apresenta também um desenho transversal, o que impede estabelecer relações de causalidade entre ansiedade, depressão e atividade da doença.

5. CONCLUSÕES

A elevada prevalência de Ansiedade e Depressão entre indivíduos com doença inflamatória intestinal (DII) evidencia a necessidade de reconhecimento e diagnóstico precoce destas comorbidades. A identificação atempada e o tratamento adequado dos sintomas psicológicos constituem componentes essenciais para otimizar o prognóstico, melhorar a qualidade de vida e reduzir o impacto global da doença. A implementação de protocolos sistemáticos de triagem para perturbações psiquiátricas em doentes com DII pode favorecer intervenções mais eficazes, integradas e alinhadas com os princípios de cuidados centrados no doente, contribuindo para melhores desfechos clínicos e psicossociais. Paralelamente, a sensibilização e capacitação dos profissionais de saúde para a elevada coexistência destas condições pode diminuir o subdiagnóstico e a subvalorização destes fatores, promovendo uma abordagem verdadeiramente holística e multidisciplinar na gestão da DII.

mutual aggravation, reinforcing the need for an integrated and multidimensional approach in the management of these patients.

The present study provides a relevant contribution by systematically gathering and analyzing recent investigations evaluating anxiety and depression in adults with IBD. This review allows the identification of consistent trends, particularly the higher prevalence of anxiety compared with depression, and clarifies differences among IBD subtypes. The review offers a comparative and structured perspective on the psychological impact of IBD, reinforcing the need to incorporate systematic mental health assessment into clinical practice and to develop broader and multidisciplinary therapeutic approaches.

This study presents some limitations that should be considered when interpreting the results. First, heterogeneity was observed among the included studies regarding the instruments used to assess anxiety and depression, sample characteristics, and methodological design. This variability hindered direct comparison among studies and prevented the performance of a meta-analysis, leading to the need for a descriptive synthesis.

Additionally, the included studies used different psychological assessment instruments, each with distinct cut-off points, sensitivity, and specificity. This methodological diversity may have influenced the reported prevalence rates, contributing to the wide range of observed values.

Another limitation relates to the fact that risk of bias assessment was performed narratively based on Crombie's Critical Appraisal Checklist. Therefore, the interpretation of risk of bias should be understood within the context of a descriptive review.

Most included studies also presented a cross-sectional design, which prevents the establishment of causal relationships between anxiety, depression, and disease activity.

5. CONCLUSIONS

The high prevalence of anxiety and depression among individuals with Inflammatory Bowel Disease (IBD) highlights the need for early recognition and diagnosis of these comorbidities. Timely identification and appropriate treatment of psychological symptoms constitute essential components for optimizing prognosis, improving quality of life, and reducing the overall impact of the disease. The implementation of systematic screening protocols for psychiatric disorders in patients with IBD may promote more effective and integrated interventions aligned with the principles of patient-centered care, thereby contributing to improved clinical and psychosocial outcomes. Simultaneously, increasing awareness and training among healthcare professionals regarding the high coexistence of these conditions may reduce underdiagnosis and the underestimation of these factors, promoting a truly holistic and multidisciplinary approach to the management of IBD.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest.

CONFLITO DE INTERESSES

Declara-se não existir conflito de interesses.

CONTRIBUIÇÕES AUTORAIS

Conceptualização, Ana Patrícia Duarte, Carolina Branco e Ana Maria Pereira; Metodologia, Ana Patrícia Duarte, Carolina Branco e Ana Maria Pereira; Validação, Ana Maria Pereira; Análise formal, Ana Patrícia Duarte, Carolina Branco e Ana Maria Pereira; Investigação, Ana Patrícia Duarte, Carolina Branco e Ana Maria Pereira; Redação - preparação do draft original, Ana Patrícia Duarte, Carolina Branco e Ana Maria Pereira; Coordenação do projeto, Ana Maria Pereira. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization, Ana Patrícia Duarte, Carolina Branco, and Ana Maria Pereira; Methodology, Ana Patrícia Duarte, Carolina Branco, and Ana Maria Pereira; Validation, Ana Maria Pereira; Formal analysis, Ana Patrícia Duarte, Carolina Branco, and Ana Maria Pereira; Investigation, Ana Patrícia Duarte, Carolina Branco, and Ana Maria Pereira; Writing – original draft preparation, Ana Patrícia Duarte, Carolina Branco, and Ana Maria Pereira; Project coordination, Ana Maria Pereira. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- Abdelbadee S, Yoon G, Pearman K, Kumar A, Harvey PR. Understanding How Mental Health Influences IBD Outcomes: A Review of Potential Culprit Biological Mechanisms. *Biomedicines* 13:2916, 2025.
- Abu Sneineh A, Haj Ali S, Al-Masri A, Diab A, Aldweik F, Darweesh M, Qaisi M, Alshakhatreh O, Tamimi T, Rayyan Y, Banimustafa R, Sablaban I. Prevalence of anxiety and depressive symptoms in ulcerative colitis patients in Jordan and its relationship to patient-reported disease activity. *Scientific Reports* 12:7682, 2022.
- Alnafisah K, Alsaleem HN, Aldakheel FN, Alrashidi AB, Alayid RA, Almuhayzi HN, Alrebdi YM. Anxiety and Depression in Patients with Inflammatory Bowel Disease at King Fahad Specialist Hospital, Qassim Region. *Cureus*, 2023.
- Ashton JJ, Mossotto E, Ennis S, Beattie RM. Personalising medicine in inflammatory bowel disease – current and future perspectives. *Transl Pediatr* 8(1): 56–69, 2019.
- Babic E, Bevanda M, Karin M, Volaric M, Bogut A, Bevanda Glibo D, Bevanda D, Sutalo N. Anxiety, depression and personality types in patients with inflammatory bowel disease: comparisons with peptic ulcer and the general population. *Psychiatria Danubina* 33 (1): 48-56, 2021.
- Banovic I, Montreuil L, Derrey-Bunel M, Scrima F, Savoye G, Beaugerie L, Gay MC. Toward Further Understanding of Crohn's Disease-Related Fatigue: The Role of Depression and Emotional Processing. *Front Psychol* 11:2020.
- Barberio B, Zamani M, Black CJ, Savarino EV, Ford AC. Prevalence of symptoms of anxiety and depression in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 6(5):359–370, 2021.
- Batista TM, Barretta C, de Matos CH, Bobato ST, Malluta EF, Scolaro BL, de Mello MK, Specht CM. Mudanças no consumo alimentar e nas condições psicossociais geradas pela doença inflamatória intestinal. *Rev Bras Tecnol Sociais* 5:48–58, 2018.
- Ben Thabet J, Charfi N, Mnif L, Yaich S, Zouari L, Zouari N, Tahri N, Damak J, Maalej M. Troubles émotionnels associés aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Tunis Med* 90:557–563, 2012.
- Bernabeu P, Belén-Galipienso O, van-der Hofstadt C, Gutiérrez A, Madero-Velázquez L, García Del Castillo G, García-Sepulcre MF, Aguas M, Zapater P, Rodríguez-Marín J, Ruiz-Cantero MT, Cameo JI, Jover R, Sempere L. Psychological burden and quality of life in newly diagnosed inflammatory bowel disease patients. *Front Psychol* 15:1334308, 2024.
- Bisgaard TH, Allin KH, Keefer L, Ananthakrishnan AN, Jess T. Depression and anxiety in inflammatory bowel disease: epidemiology, mechanisms and treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 19(11):717–726, 2022.
- Byrne G, Rosenfeld G, Leung Y, Qian H, Raudzus J, Nunez C, Bressler B. Prevalence of Anxiety and Depression in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2017:1–6, 2017.
- Duan S, Yang Y, Cao Y, Chen P, Liang C, Zhang Y. Symptoms of anxiety and depression associated with steroid efficacy and clinical outcomes in patients with inflammatory bowel disease. *Front Psychiatry* 14:2023.
- Falcão LT, Martinelli VF. Associação de doença inflamatória intestinal com ansiedade e depressão: avaliação dos fatores de risco. *Gastroenterol. Endosc. Dig* 35(2): 52-58, 2016.
- Franco FCZ, Oliveira MCC, Gaburri PD, Franco DCZ, Chebli JMF. High prevalence of non-adherence to ulcerative colitis therapy in remission: knowing the problem to prevent loss. *Arq Gastroenterol* 59(1):40–46, 2022.
- Galvão M. Qualidade de vida, depressão e ansiedade em pacientes portadores da doença inflamatória intestinal em Sergipe. [Monografia de graduação em Medicina, Universidade Federal de Sergipe], 2019.
- Gao X, Duan S, Cao Y, Zhang Y. Change of monocytes/macrophages in ulcerative colitis patients with symptoms of anxiety and depression. *BMC Gastroenterol* 23:67, 2023.
- Gao X, Tang Y, Lei N, Luo Y, Chen P, Liang C, Duan S, Zhang Y. Symptoms of anxiety/depression is associated with more aggressive inflammatory bowel disease. *Sci Rep* 11:1440, 2021.
- Geboes K, Van Eyken P. Inflammatory bowel disease unclassified and indeterminate colitis: the role of the pathologist. *Journal of Clinical Pathology* 62:201-205, 2009
- Gong G, Xu C, Zhang Z, Zheng Y. Association between depression and anxiety with the risk and flare of inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Intern Emerg Med* 20 (1) :35–46, 2025.
- Graff LA, Walker JR, Lix L, Clara I, Rawsthorne P, Rogala L, Miller N, Jakul L, McPhail C, Ediger J, Bernstein CN. The relationship of inflammatory bowel disease type and activity to psychological functioning and quality of life. *Clin Gastroenterol Hepatol* 4(12):1491–1501, 2006.
- Graeff DJ, Guthrie EA, Hamlin PJ, Ford AC. Bi-directionality of brain–gut interactions in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 154(6):1635–1646, 2018.

- Halloran J, McDermott B, Ewais T, Begun J, Karatela S, d'Emden H, Corias C, Denny S. Psychosocial burden of inflammatory bowel disease in adolescents and young adults. *Intern Med J* 51(12):2027–2033, 2021.
- Hanauer SB. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflamm Bowel Dis* 12: S3–S9, 2006.
- Karpin JE, Rodriguez TG, Traboulsi C, Rai V, Gibbons RD, Rubin DT. Assessment of comorbid depression and anxiety in inflammatory bowel disease using adaptive testing technology. *Crohn's Colitis* 360 3:2021.
- Kim DH, Cheon JH. Pathogenesis of inflammatory bowel disease and recent advances in biologic therapies. *Immune Netw* 17(1):25–40, 2017.
- Kinrys G, Wygant LE. Anxiety disorders in women: does gender matter to treatment? *Rev Bras Psiquiatr* 27: S43–S50, 2005.
- Lee SH, Kwon JE, Cho ML. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Intest Res* 16:26–42, 2018.
- Leite VM, Lopes CM, Vilela MDGA, Cardoso MG, Carvalho SO, Silva VAP, Rodrigues BS, Faria BB. Impacto dos aspectos psicológicos em portadores de doença inflamatória intestinal. *Braz J Health Rev* 3(2):1363–1367, 2020.
- Lima FDV, Ribeiro TCR, Chebli LA, Pace FHL, Chaves LDM, Ribeiro MS, Chebli JMF. Oscilação do humor em pacientes com doença de Crohn: incidência e fatores associados. *Rev Assoc Med Bras* 58(4):481–488, 2012.
- Lim J, Rezaie A. Irritable bowel syndrome-like symptoms in quiescent inflammatory bowel disease: a practical approach to diagnosis and treatment of organic causes. *Dig Dis Sci* 68(11):4081–4097, 2023.
- Massironi S, Pignoni A, Vegni EAM, Keefer L, Dubinsky MC, Brambilla P, Delvecchio G, Danese S. The Burden of Psychiatric Manifestations in Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review with Meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis* 12;31(5):1441–1459, 2025.
- Melchior C, Desprez C, Riachi G, Leroi AM, Déchelotte P, Achamrah N, Ducrotte P, Tavalacci MP, Gourcerol G. Anxiety and depression profile is associated with eating disorders in patients with irritable bowel syndrome. *Front Psychiatry* 10:2020.
- Min Ho PY, Hu W, Lee YY, Gao C, Tan YZ, Cheen HH, Wee HL, Lim TG, Ong WC. Health-related quality of life of patients with inflammatory bowel disease in Singapore. *Intest Res* 17(1):107–118, 2019
- Mikocka-Walus A, Pittet V, Rossel JB, von Känel R. Symptoms of depression and anxiety are independently associated with clinical recurrence of inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 14(6):829–835, 2016.
- Morton H, Pedley KC, Stewart RJC, Coad J. Inflammatory bowel disease: are symptoms and diet linked? *Nutrients* 12(10) 2975, 2020.
- Neves S. Experiência de crise na doença inflamatória intestinal: um estudo fenomenológico-existencial. [Tese de Mestrado em Psicologia. SPA - Instituto Universitário] 2015.
- Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, Shamseer L, Tetzlaff JM, Akl EA, Brennan SE, Chou R, Glanville J, Grimshaw JM, Hróbjartsson A, Lalu MM, Li T, Loder EW, Mayo-Wilson E, McDonald S, Moher D. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 372: n71, 2021.
- Rubin DT, Abreu MT, Rai V, Siegel CA; International Organization for the Study of Inflammatory Bowel Disease. Management of patients with Crohn's disease and ulcerative colitis during the coronavirus disease-2019 pandemic: results of an international meeting. *Gastroenterology* 159:6–13, 2020.
- Rubin DT, Ananthakrishnan AN, Siegel CA, Sauer BG, Long MD. ACG clinical guideline: ulcerative colitis in adults. *Am J Gastroenterol* 114(3) 384–413, 2019.
- Santos CH, Galindo A, Alencar B, Dantas C, Guilherme I, Gomes JE, Dallacqua K, Souza M, Senna P. Factors related to anxiety and depression in patients with inflammatory bowel disease. *Psicol Saude Doenças* 24:462–474, 2023.
- Santos CHM, Galindo ACA, Silva BAD, Dantas CR, Guilherme IAA, Gomes JEBN, Dallacqua KM, Souza MP, Senna PS. Comparative analysis of anxiety and depression prevalence between individuals with and without inflammatory bowel disease. *J Coloproctol* 40(4):339–344, 2020.
- Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 3(7) :390–407, 2006.
- Shao Y, Zhao Y, Lv H, Yan P, Yang H, Li J, Li J, Qian J. Clinical features of inflammatory bowel disease unclassified: a case-control study. *BMC Gastroenterol* 13;24(1):105, 2024
- Singh A, Bhardwaj A, Tripathi A, Ranjan MK, Singh D, Sachdeva A, Marwah M, Sadana KS, Bansal N, Mahajan R, Kaur K, Midha V, Sood A. Burden of anxiety, depression and perceived stress in patients with inflammatory bowel disease: a cohort study from North India. *Dig Dis Sci* 69:775–790, 2024.
- Soares JF. *Doença inflamatória intestinal: será também uma doença psicossomática?* [Trabalho final de Mestrado Integrado, Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa], 2017
- Souza JP, Araújo Coelho F. Prevalência dos sintomas de ansiedade e depressão nos estudantes de Medicina da UNIFAGOC. *Rev Cient Saude UNIFAGOC* 6:2021.
- Stachechem SK, Mendonça AP, Guedes BLS, Carneiro CK, Gazzoni GAS, Lima LGA, Botelho LL, Dupont P, Carrijo VM, Leite NAA. Doença de Crohn: piora das manifestações clínicas por doenças psíquicas. *Rev Eletr Acervo Cient* 29: e7946, 2021.
- Steele E, Bialocerkowski A, Grimmer K. The postural effects of load carriage on young people: a systematic review. *BMC Musculoskelet Disord* 4:12, 2003.
- Stroie T, Preda C, Istratescu D, Ciora C, Croitoru A, Diculescu M. Anxiety and depression in patients with inactive inflammatory bowel disease: the role of fatigue and health-related quality of life. *Medicine (Baltimore)* 102(19): e33713, 2023.
- Tarar ZI, Farooq U, Zafar Y, Gandhi M, Raza S, Kamal F, Tarar MF, Ghouri YA. Burden of anxiety and depression among hospitalized patients with irritable bowel syndrome: a nationwide analysis. *Ir J Med Sci* 192(5):2159–2166, 2023.
- Tarar ZI, Zafar MU, Farooq U, Ghous G, Aslam A, Inayat F, Ghouri YA. Burden of depression and anxiety among patients with inflammatory bowel disease: results of a nationwide analysis. *Int J Colorectal Dis* 37(2):313–321, 2022.
- Tomazoni El, Benvegnú DM. Symptoms of anxiety and depression, and quality of life of patients with Crohn's disease. *Arq Gastroenterol* 55(2):148–153, 2018.
- Torres J, Mehandru S, Colombel JF, Peyrin-Biroulet L. Crohn's disease. *Lancet* 389:1741–1755, 2017.
- Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF. Ulcerative colitis. *Lancet* 389:1756–1770, 2017.
- Vieira HC. Depression and inflammatory bowel disease: a bidirectional pathway? [Trabalho final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa], 2020.
- Weimers P, Munkholm P. The natural history of IBD: lessons learned. *Curr Treat Options Gastroenterol* 16(1):101–111, 2018.
- Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J Gastroenterol* 20 (1):91–99, 2014.

Protocolo de treino de equilíbrio com BlazePod® na doença de Parkinson: estudo de caso

BlazePod® balance training protocol in Parkinson's Disease: case-report

Mariana Julião^{1*} , Beatriz Santos² , Cristina Sá¹ 

¹Escola Superior de Saúde do Alcoitão, Departamento de Fisioterapia, Cascais, Lisboa, Portugal

²CNS — Campus Neurológico, Lisboa, Portugal

*Autor correspondente/Corresponding author: marianamjuliao@gmail.com

Recebido/Received: 25-08-2025; Revisto/Revised: 26-03-2026; Aceite/Accepted: 04-05-2026

Resumo

Introdução: A Doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa que se caracteriza por déficit no controlo postural e equilíbrio, aumentando o risco de quedas. As tecnologias emergentes, como o BlazePod®, oferecem potencial para complementar abordagens convencionais, integrando estímulos visuais dinâmicos com dupla tarefa no treino de equilíbrio. **Objetivo:** Descrever um protocolo de intervenção em fisioterapia, que integrou treino de equilíbrio com BlazePod®. **Material e Métodos:** Estudo de caso de um paciente do sexo masculino, de 79 anos, com DP há 11 anos (estágio 3 Hoehn e Yahr). O protocolo teve a duração de quatro semanas, com três sessões semanais (duas com BlazePod® e uma de fisioterapia convencional). A avaliação e reavaliação incluíram o equilíbrio (Mini-BESTest) e a mobilidade funcional (*Time Up Go test* (TUG)) simples e com dupla tarefa). **Resultados:** Verificou-se melhoria na pontuação da Mini-BESTest de 19/28 para 21/28, ultrapassando o *cut-off* para risco de queda. As principais melhorias ocorreram nas respostas posturais reativas para trás e no *subscore* da orientação sensorial. Não se observaram alterações no teste TUG sem e com dupla tarefa motora, apenas ligeira variação negativa no teste TUG com dupla tarefa cognitiva. **Conclusão:** Os resultados sugerem que o protocolo de intervenção integrando o treino de equilíbrio com BlazePod® possibilita reduzir o risco de queda do paciente. As limitações metodológicas inerentes ao estudo de caso impossibilitam estabelecer relações de causa-efeito. Ensaios clínicos randomizados são necessários para validar a eficácia da intervenção e retenção dos ganhos a longo prazo.

Palavras-chave: BlazePod®; Controlo Postural; Doença do Movimento; Dupla Tarefa; Estudo de Caso; Pistas Visuais.

Abstract

Introduction: Parkinson's Disease (PD) is a neurodegenerative disorder characterized by deficits in postural control, increasing the risk of falls. Emerging technologies, such as BlazePod®, offer potential to complement conventional approaches by integrating dynamic visual cues with dual-task training in balance rehabilitation. Aim of the study: To describe an intervention protocol that integrated balance training with BlazePod® technology in the physiotherapy treatment of a patient with PD diagnosis. **Methodology:** A case report of a 79-year-old male patient with an 11-year diagnosis of PD, classified as stage 3 on the Hoehn and Yahr scale. The protocol lasted for four weeks, with three weekly sessions (two with BlazePod® and one of conventional physiotherapy). Assessment and reassessment included balance (Mini-BESTest) and functional mobility (simple Time Up Go test (TUG)) and with dual tasks). **Results:** There was improvement in the Mini-BESTest total score from 19/28 to 21/28, exceeding the cut-off value for fall risk. The main improvements occurred in backward postural reactive responses and in the sensory orientation subscore. No changes were observed in TUG without dual task and with motor dual task, only a slight negative variation in TUG with cognitive dual task. **Conclusion:** The results suggest that the intervention protocol integrating balance training with BlazePod® makes it possible to reduce the patient's risk of falling. The methodological limitations inherent to the case study design make it impossible to establish cause-effect relationships. Future randomized controlled trials are needed to validate the effectiveness of this intervention and the long-term retention of gains.

Keywords: BlazePod®; Case Report; Dual Task; Movement Disorder; Postural Control; Visual Cues.

1. INTRODUÇÃO

A DP é a segunda doença neurodegenerativa mais prevalente (Cabreira & Massano, 2019), afetando 1% da população com mais de 60 anos (Tysnes & Storstein, 2017). Caracterizada pela degeneração dopaminérgica nigroestriatal e disfunção corticoestriatal (M. E. Johansson et al., 2022), esta doença compromete redes neurais críticas para o movimento e cognição. A sua prevalência tem aumentado nas últimas três décadas, devido a fatores ambientais e genéticos (Cabreira & Massano, 2019), sendo que 5% a 10% dos indivíduos apresentam predisposição hereditária (Zafar & Yaddanapudi, 2023).

A doença inicia-se habitualmente com sintomas ligeiros, sendo a progressão dos mesmos lenta, durante os primeiros três a cinco anos. A maioria dos pacientes não apresenta uma incapacidade significativa, apesar de poder haver alguma interferência na execução de tarefas da vida diária. Os sintomas cardinais da DP incluem sintomas motores, tais como bradicinesia, tremor de repouso e rigidez. Todos estes sintomas levam a alterações significativas ao nível do equilíbrio, comprometendo a mobilidade funcional. Os sintomas podem ainda ser não motores, verificando-se distúrbios a nível do sono, ansiedade, depressão, demência e disfunções ao nível do sistema nervoso autónomo (Balestrino & Schapira, 2020).

O pobre controlo postural e a instabilidade associada encontram-se entre as características mais incapacitantes da DP (Rinalduzzi *et al.*, 2015). O controlo postural constitui uma função multissistémica dedicada a manter o corpo ereto em diferentes posturas e transições, integrando *inputs* provenientes dos sistemas proprioceptivo, vestibular e visual, de modo a gerar respostas neuromusculares e ajustes motores finais (Rinalduzzi *et al.*, 2015). As perturbações do equilíbrio resultam do deslocamento do centro de gravidade, que pode ter origem em fatores internos (como a oscilação natural do corpo ou o movimento dos membros) ou externos (por exemplo, um empurrão súbito ou a travagem repentina de um veículo). Nestas circunstâncias, défice na interpretação e integração dos sistemas sensoriais, no planeamento de respostas adequadas ou na ativação dos músculos sinérgistas, o indivíduo torna-se suscetível a quedas (Barbosa *et al.*, 2016).

Estima-se que aproximadamente 60% dos indivíduos com DP experienciem pelo menos uma queda por ano, sendo que 40% apresentam episódios recorrentes. Estas quedas podem estar associadas à incapacidade de efetuar ajustes posturais compensatórios para recuperar o equilíbrio quando o centro de gravidade se desloca para fora da base de sustentação, a qual se encontra reduzida nesta doença (Arroyo-Ferrer *et al.*, 2020). De acordo com Barbosa *et al.* (2016), indivíduos com história de quedas revelam ainda menor tempo de reação e velocidade de resposta.

O tempo de reação, definido como o intervalo entre a apresentação de um estímulo e a produção de uma resposta intencional, tem-se mostrado significativamente prejudicado em função do défice no transporte de dopamina, estando este associado a um aumento das alterações posturais (Arroyo-Ferrer *et al.*, 2020), devido à bradicinesia característica da DP.

Na avaliação destes pacientes, é crucial proceder a uma avaliação detalhada do equilíbrio, atendendo a que a sua deterioração se manifesta através de limitações biomecânicas,

1. INTRODUCTION

PD is the second most prevalent neurodegenerative condition (Cabreira & Massano, 2019), affecting approximately 1% of individuals over 60 years old (Tysnes & Storstein, 2017). Characterized by nigrostriatal dopaminergic degeneration and corticostriatal dysfunction (M. E. Johansson et al., 2022), the disease disrupts critical movement and cognition neural networks. Its prevalence has risen steadily over the past three decades, due to both environmental and genetic factors (Cabreira & Massano, 2019), with 5–10% of cases displaying a hereditary predisposition (Zafar & Yaddanapudi, 2023).

Disease onset is typically characterized by mild symptoms, with slow progression over the first three to five years. Most patients do not experience significant disability during this period, although some interference with activities of daily living (ADLs) may occur. The cardinal motor features of PD, which include bradykinesia, resting tremor, and rigidity, collectively impair balance and compromise functional mobility. Non-motor manifestations are equally relevant, involving sleep disturbances, anxiety, depression, dementia, and autonomic dysfunction (Balestrino & Schapira, 2020).

Poor postural control and the resulting instability rank among the most disabling features of PD (Rinalduzzi *et al.*, 2015). Postural control is a multisystemic function dedicated to maintaining an upright position across a range of postures and transitions, integrating proprioceptive, vestibular, and visual inputs to generate neuromuscular responses and motor adjustments (Rinalduzzi *et al.*, 2015). Balance perturbations arise from displacement of the center of gravity, which may result from internal factors (such as physiological body sway or limb movement) or external forces (for instance, a sudden push or unexpected vehicle braking). In these circumstances, deficits in sensory integration, in the planning of appropriate responses, or in the recruitment of synergist muscles render the individual vulnerable to falls (Barbosa *et al.*, 2016).

Approximately 60% of individuals with PD experience at least one fall per year, and 40% report recurrent episodes. Falls often arise from an inability to generate compensatory postural adjustments to recover balance when the center of gravity is displaced beyond the base of support, which is already reduced in PD (Arroyo-Ferrer *et al.*, 2020). Barbosa *et al.* (2016) further note that individuals with a history of falls display diminished reaction time and response speed.

Reaction time, defined as the interval between stimulus presentation and the initiation of a voluntary response, is significantly impaired in PD as a consequence of disrupted dopaminergic transmission, and is closely associated with the postural alterations driven by bradykinesia (Arroyo-Ferrer *et al.*, 2020).

The clinical assessment of these patients warrants a comprehensive evaluation of balance, given that its deterioration manifests across multiple domains: biomechanical constraints, reduced stability limits, deficits in anticipatory and compensatory postural adjustments, inadequate reactive responses, as well as impaired sensory orientation and dynamic gait control (Qian *et al.*, 2023).

Balance may be assessed using the Mini-BESTest, recognized as the strongest independent predictor of falls in

redução dos limites de estabilidade, défices nos ajustes posturais antecipatórios e compensatórios, respostas posturais inadequadas, bem como prejuízos na orientação sensorial e no controlo dinâmico da marcha (Qian *et al.*, 2023).

Assim, o equilíbrio pode ser avaliado através do Mini-BESTest, sendo este o melhor preditor independente de quedas em indivíduos com DP, estando validada para esta população (Lopes *et al.*, 2020). Outro aspeto fundamental a avaliar é a mobilidade funcional, tendo em conta o seu comprometimento, devido ao diagnóstico de DP. O teste *Time Up and Go* (TUG), é uma ferramenta clínica válida e fidedigna em indivíduos com DP (Luque-Casado *et al.*, 2021). Para além disso, a adição de uma tarefa cognitiva ao teste TUG (TUG com dupla tarefa cognitiva) aumenta a validade preditiva relacionada com o risco de queda (Çekok *et al.*, 2020).

A base do tratamento da DP consiste na combinação entre terapia medicamentosa e fisioterapia. A medicação sintomática (antagonistas da dopamina ou levodopa) aumenta as concentrações de dopamina ou estimula diretamente os recetores de dopamina (Qian *et al.*, 2023), assegurando o controlo contínuo dos sinais da doença ao longo do dia (Ferreira & Levy, 2003). A fisioterapia desempenha um papel fundamental na recuperação funcional e na melhoria dos sintomas e da qualidade de vida do indivíduo com DP (Israni *et al.*, 2024; Qian *et al.*, 2023), recorrendo a modalidades como treino de marcha (*treadmill* e marcha nórdica), equilíbrio, dupla tarefa, fortalecimento muscular, hidroterapia, pilates e estratégias inovadoras (*exergaming*, dança e artes marciais) que demonstraram benefícios na melhoria dos sintomas motores e não motores da DP (Qian *et al.*, 2023; Mak & Wong-Yu, 2019; Radder *et al.*, 2020; Ellis *et al.*, 2021). Estas intervenções auxiliam a manter a independência funcional, reduzir o risco de queda e melhorar a postura e a marcha.

Entre as intervenções validadas para melhorar o equilíbrio em indivíduos com DP, constam métodos como o treino de passos reativos e volitivos, o treino de dupla tarefa e pistas visuais dinâmicas, desafiando os mecanismos neuromotores envolvidos no equilíbrio. Para além disso, exercício aeróbio e fortalecimento muscular têm mostrado melhorar a funcionalidade física e reduzir sintomas da doença (Radder *et al.*, 2017).

Os passos reativos são respostas motoras a perturbações inesperadas do equilíbrio, enquanto passos volitivos referem-se a movimentos intencionais e controlados. O treino destes padrões de movimento visa aprimorar os ajustes compensatórios e antecipatórios, através de exercícios como caminhar sobre alvos ou realizar sequências estruturadas. O estudo de Pelicioni *et al.* (2023) demonstra que a combinação de treino de passos reativos e volitivos pode melhorar a recuperação do equilíbrio após uma perturbação induzida e o tempo de reação do passo voluntário, sugerindo uma redução do número de quedas em indivíduos com DP.

Por sua vez, a dupla tarefa refere-se à capacidade de realizar duas ou mais atividades cognitivas e físicas em simultâneo. Vários estudos indicam que o treino de dupla tarefa pratica simultaneamente a alocação de atenção e a adaptação a desafios dinâmicos, potenciando respostas eficazes a imprevistos diários. Além disso, esta abordagem melhora a capacidade de redistribuição do peso corporal, o tempo de reação e a capacidade de adaptação a superfícies instáveis, o que contribui

individuals with PD and validated for this population (Lopes *et al.*, 2020). The assessment of functional mobility is equally relevant, given its frequent impairment in PD. The Timed Up and Go (TUG) test is a valid and reliable clinical measure in this context (Luque-Casado *et al.*, 2021). Hence, the addition of a cognitive task to the TUG (dual-task TUG) further enhances its predictive validity with respect to fall (Çekok *et al.*, 2020).

The cornerstone of PD management consists of a combination of pharmacological therapy and physiotherapy. Symptomatic medication (dopamine agonists or levodopa) increases dopaminergic availability or directly stimulates dopamine receptors (Qian *et al.*, 2023), ensuring continuous symptom control throughout the day (Ferreira & Levy, 2003). Physiotherapy plays a central role in functional recovery and quality-of-life improvement in PD (Israni *et al.*, 2024; Qian *et al.*, 2023), leaning on modalities such as treadmill and Nordic walking, balance training, dual-task practice, muscle strengthening, hydrotherapy, Pilates, and innovative approaches including exergaming, dance, and martial arts, all of which have demonstrated benefits in attenuating both motor and non-motor PD symptoms (Qian *et al.*, 2023; Mak & Wong-Yu, 2019; Radder *et al.*, 2020; Ellis *et al.*, 2021). These interventions contribute to preserving functional independence, reducing fall risk, and improving posture and gait.

Among the evidence-based interventions for balance improvement in PD, reactive and volitional step training, dual-task training, and dynamic visual cueing are well-established strategies, each targeting distinct neuromotor mechanisms underlying balance. Additionally, aerobic exercise and muscle strengthening have similarly demonstrated improvements in physical function and symptom reduction (Radder *et al.*, 2017).

Reactive steps represent motor responses to unexpected balance perturbations, whereas volitional steps refer to intentional, controlled movements. Training these movement patterns aims to refine compensatory and anticipatory adjustments through exercises such as stepping onto targets or performing structured sequences. Pelicioni *et al.* (2023) showed that combined reactive and volitional step training can enhance balance recovery following induced perturbations and reduce voluntary step reaction time, with implications for fall reduction in individuals with PD.

Dual tasking refers to the ability to perform two or more cognitive and physical activities simultaneously. A growing body of evidence indicates that dual-task training simultaneously addresses attentional allocation and adaptation to dynamic challenges, facilitating effective responses to everyday unpredictable situations. This approach has also been shown to improve weight-redistribution capacity, reaction time, and adaptability to unstable surfaces, collectively contributing to greater safety and reduced fall risk in PD population (Park, 2022; García-López *et al.*, 2023; Xiao *et al.*, 2023).

Given the established efficacy of conventional approaches, there is growing interest in exploring new strategies capable of increasing balance training in PD. A recent study demonstrated that interventions based on dynamic visual stimuli, incorporating individualized progression and gamification, enhance neuromotor rehabilitation with measurable impacts on balance and reactive response efficiency to external stimuli

para uma maior segurança e redução do risco de queda nesta população (Park, 2022; García-López *et al.*, 2023; Xiao *et al.*, 2023).

Dado o impacto positivo das abordagens convencionais, torna-se relevante explorar novas estratégias que potencializem o treino do equilíbrio em indivíduos com DP. Um estudo recente demonstrou que intervenções baseadas em estímulos visuais dinâmicos, ao integrarem a personalização individual e gamificação, potenciam a reabilitação neuromotora com impacto no equilíbrio e na eficácia do treino reativo a estímulos externos (Wallin *et al.*, 2025).

De acordo com Giorgi *et al.* (2024), o recurso a pistas visuais demonstra-se particularmente eficaz no equilíbrio dinâmico e orientação espacial, o que justifica a sua utilização em protocolos de treino funcional. Este estudo enfatiza que intervenções supervisionadas e estruturadas, como sessões com ajuste progressivo de dificuldade, tendem a gerar maiores benefícios.

Tecnologias como os BlazePod® emergem como estratégias viáveis para traduzir a evidência recente em protocolos clínicos adaptáveis. Trata-se de uma plataforma de treino inteligente que utiliza pistas visuais reativas, estimulando a atividade física e cognitiva com pequenos *pods* iluminados e controlados através de uma aplicação interativa, permitindo o acompanhamento em tempo real e ajudando os fisioterapeutas a monitorizar e ajustar o progresso do indivíduo (*Revolutionize Recovery With BlazePod*, 2024). A sua fidedignidade foi demonstrada num estudo recente (ICC=0,82) para o tempo de reação, evidenciando uma boa consistência de teste/reteste (de-Oliveira *et al.*, 2021). Adicionalmente, esta tecnologia encontra-se validada para a população geriátrica (Ilin & Kalron, 2025).

Indivíduos com DP apresentam dificuldades na execução de tarefas simultâneas, devido à redução na capacidade de dividir a atenção entre tarefas motoras e cognitivas. Deste modo, a integração destes dispositivos na fisioterapia possibilita a criação de exercícios dinâmicos e desafiantes, focados no equilíbrio, coordenação e função cognitiva, já que combinam componentes motores e cognitivos em simultâneo, exigindo não só respostas motoras (por exemplo, tocar nos *pods* iluminados), como também processamento cognitivo contínuo (como seguir sequências específicas, reagir a estímulos visuais, discriminar cores e nomear categorias), proporcionando uma plataforma ideal para implementar o treino de dupla tarefa e simular situações reais em que a execução de ações se dá paralelamente ao processamento de informação.

Deste modo, a exploração de novas tecnologias na intervenção do treino de equilíbrio em indivíduos com DP torna-se relevante, na medida em que o treino com BlazePod® apresenta potencial para complementar e reforçar estratégias convencionais de reabilitação. Embora promissor, este tipo de abordagem ainda carece de estudos de alta evidência que validem a sua eficácia no contexto da DP. Assim sendo, o objetivo deste estudo de caso é descrever um protocolo de intervenção, que integrou treino de equilíbrio com recurso à tecnologia BlazePod®, na intervenção de um indivíduo com DP.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo de caso pretende descrever a evolução clínica e funcional observada durante a aplicação de um protocolo de intervenção que integrou treino de equilíbrio, com recurso

(Wallin *et al.*, 2025).

Giorgi *et al.* (2024), further highlighted that visual cueing is particularly effective in promoting dynamic balance and spatial orientation, justifying its inclusion in functional training protocols. That study also states that supervised, structured interventions with progressive difficulty tend to yield greater benefits.

Technologies such as BlazePod® emerge as viable tools for translating recent evidence into adaptable clinical protocols. BlazePod® is an intelligent training platform that employs reactive visual cues to stimulate physical and cognitive activity through illuminated pods controlled via an interactive application, enabling real-time performance monitoring and allowing physiotherapists to track and adjust individual progress (*Revolutionize Recovery With BlazePod*, 2024). Its reliability has been demonstrated in a recent study (ICC=0,82) for reaction time, indicating good test-retest consistency (de-Oliveira *et al.*, 2021). Additionally, this technology has been validated for use in geriatric population (Ilin & Kalron, 2025).

Individuals with PD experience difficulties with simultaneous task performance, attributable to a reduced capacity for dividing attention between concurrent motor and cognitive demands. The integration of such devices into physiotherapy settings enables the design of dynamic, challenging exercises targeting balance, coordination, and cognitive function, as they combine motor and cognitive components simultaneously, requiring not only motor responses (such as deactivating illuminated pods) but also continuous cognitive processing (for instance, following specific sequences, reacting to visual stimuli, discriminating colors, and naming categories). This provides an ideal platform for implementing dual-task training and simulating real-life situations in which actions must be performed alongside information processing.

Thus, the use of new technologies in balance training interventions for individuals with PD becomes relevant, as BlazePod® training has the potential to complement and reinforce conventional rehabilitation strategies. Despite its promise, this type of approach still lacks high-quality evidence validating its efficacy in the context of PD. The aim of this case report is therefore to describe a physiotherapy intervention protocol integrating BlazePod® balance training in the management of an individual with PD.

2. MATERIAL AND METHODS

This case report aims to describe the clinical and functional evolution observed during the application of an intervention protocol integrating balance training using BlazePod® technology in an individual diagnosed with PD. The methodology is based on a single-case descriptive design, structured to systematically document the patient's initial condition, the implementation of an 8-session program over four weeks, and the changes recorded in motor and functional outcomes.

At the beginning of the intervention, all study details were explained to the participant, who signed an informed consent form after having all his questions addressed.

à tecnologia BlazePod®, num indivíduo com diagnóstico de DP. Assim, a metodologia do estudo centra-se num desenho descritivo de caso único, estruturado para documentar de forma sistemática a condição inicial do paciente, a implementação do programa de 8 sessões ao longo de 4 semanas e as alterações verificadas nos resultados motores e funcionais.

No início do protocolo de intervenção, todos os detalhes do estudo foram explicados ao participante, que assinou o consentimento informado após esclarecer todas as suas dúvidas.

2.1. PARTICIPANTE

Indivíduo do sexo masculino, de 79 anos, reformado, tinha como profissões piloto e professor universitário e reside com a mulher no 2º andar de um prédio com elevador e oito degraus ou uma rampa de acesso, sendo autónomo em ambas as situações.

Diagnosticado com DP em 2014, o primeiro sintoma manifestou-se por tremor no hálux direito, sem perceção do mesmo. O indivíduo apresentava história anterior de Próteses Totais das Ancas (PTA) nas duas ancas (2017, 2020 e 2023, sendo a última por fratura da PTA direita) e intervenção cirúrgica às cataratas em 2025, sem comorbilidades associadas. Atualmente realiza terapia medicamentosa para a DP e para tratamento da hiperplasia benigna da próstata, além de suplementos vitamínicos.

O principal problema referido pelo indivíduo centrou-se na dificuldade em atar os atacadores, em virtude da presença das PTA. O mesmo relatou ainda limitações ao nível da marcha, por necessidade de recorrer a um auxiliar de marcha (andarrilho de quatro rodas) para percorrer longas distâncias, bem como o receio de perder o equilíbrio em espaços apertados ou desconhecidos. Identificou, ainda, dificuldades no equilíbrio em situações dinâmicas e inesperadas. As principais expectativas do indivíduo eram retardar a progressão da doença e manter o seu condicionamento físico.

De acordo com a Classificação Internacional de Funcionalidade, Incapacidade e Saúde (CIF), o indivíduo apresenta alterações e limitações, representadas na Tabela 1.

2.1. PARTICIPANT

The participant was a 79-year-old male, retired, with a professional background as an airline pilot and university professor. He lived with his wife on the second floor of a building with an elevator, as well as access via eight stairs or a ramp, and remained independent in both situations.

He had been diagnosed with PD in 2014, with the first symptom manifesting as a right hallux tremor, of which he was unaware at the time. His medical history included bilateral total hip arthroplasty (THA) performed in 2017, 2020, and 2023 (the last of which was due to a right THA fracture) and cataract surgery in 2025, with no additional relevant comorbidities. Current medications consisted of pharmacological treatment for PD, benign prostatic hyperplasia, and vitamin supplementation.

The primary concern reported by the participant was difficulty tying shoelaces due to THA-related constraints. He also described gait limitations requiring the use of a four-wheeled rollator for longer distances, as well as apprehension regarding balance loss in confined or unfamiliar environments. Difficulties with balance in dynamic and unexpected situations were also identified. The participant's principal expectations were to slow disease progression and maintain his physical conditioning.

According to the International Classification of Functioning, Disability and Health (ICF), the participant presented the limitations and restrictions detailed in Table 1.

Tabela/Table 1: Limitações do indivíduo de acordo com a CIF/Participant limitations according to the ICF.

Restrição da Participação/ Participation Restriction	Limitação da Atividade/ Activity Limitation	Alterações da Estrutura e Função/ Body Structure and Function Alterations
d540.2 – Calçar (dificuldade em atar os atacadores autonomamente, devido às PTA)/d540.2 – Putting on footwear (difficulty tying shoelaces independently due to THA)	<p>d465 – Deslocar-se utilizando um equipamento (recorre a auxiliar de marcha – andariço de quatro rodas – para percorrer longas distâncias)/d465 – Moving around using equipment (uses four-wheeled rollator for long distances)</p> <p>d455.1 – Subir/ descer (dificuldade a subir e descer escadas com autonomia, sem apoio do corrimão)/ d455.1 – Climbing (difficulty ascending/descending stairs without handrail support)</p> <p>d410.6 – Mudar o centro de gravidade do corpo (dificuldade na transferência de peso postero-anterior, apresentando ligeiro sinal de repulsão, devido à instabilidade postural existente)/ d410.6 – Shifting the body's center of gravity (difficulty with anteroposterior weight transfer, presenting a mild repulsion sign due to postural instability)</p> <p>d220 – Realizar tarefas múltiplas (dificuldade na execução da dupla tarefa motora-cognitiva)/d220 – Undertaking multiple tasks (difficulty with motor-cognitive dual-task execution)</p> <p>b455 – Funções de tolerância ao exercício/b455 – Exercise tolerance functions</p>	<p>b755 – Funções de reações motoras involuntárias (apresenta dificuldades nas reações de equilíbrio: ajustes posturais antecipatórios e nas respostas posturais reativas)/b755 – Involuntary movement reaction functions (difficulties with balance reactions: anticipatory postural adjustments and reactive postural responses)</p> <p>b765.0 – Contração involuntária dos músculos (apresenta discinesias no membro superior direito, distalmente)/ b765.0 – Involuntary contractions of muscles (dyskinesias in the right upper limb, distally)</p> <p>b780.0 – Sensação de rigidez muscular (apresenta rigidez ligeira nos membros superiores e rigidez marcada nos membros inferiores, essencialmente devido à colocação de PTA)/b780.0 – Sensation of muscle stiffness (mild upper-limb rigidity and marked lower-limb rigidity, primarily attributable to THA)</p> <p>b715 – Funções da estabilidade das articulações (alterações posturais: postura em flexão do tronco e anteriorização da cervical)/b715 – Stability of joint functions (postural changes: trunk flexion and anterior cervical shift)</p> <p>b720.1 – Mobilidade da pélvis (restrição da mobilidade da bacia, com alterações de mobilidade na relação tronco-pélvis)/b720.1 – Mobility of pelvis (restricted pelvic mobility, with impaired trunk-pelvis relationship)</p> <p>b730 – Funções da força muscular (fraqueza muscular generalizada)/ b730 – Muscle power functions (generalized muscle weakness)</p>
<p>Legenda/Legend: DICF: International Classification of Functioning, Disability and Health; THA: Total Hip Arthroplasty.</p>		

No momento da avaliação inicial, o indivíduo encontrava-se colaborante, bem-disposto e no período ON da medicação. Neste momento, foram aplicados os seguintes instrumentos de medida:

Mini-BESTest: avalia o equilíbrio em quatro parâmetros distintos e específicos do controlo postural: ajustes posturais antecipatórios, respostas posturais reativas, orientação sensorial e estabilidade na marcha, sendo a pontuação total 28 e o valor *cut-off* para risco de queda inferior a 21 pontos (Lopes et al., 2020). Apresenta um total de 14 itens, classificados de 0 (grave) a 2 (normal). Representa uma escala fidedigna, apresentando valores de teste/re-teste excelentes (ICC=0,92-0,98) (Di Carlo et al., 2016) e uma correlação muito significativa com a BESTest (r=0,9555) (Leddy et al., 2011).

Time Up and Go (TUG): avalia a mobilidade funcional, apresentando uma forte associação com a velocidade e com a capacidade funcional global. Constitui uma ferramenta clínica válida em indivíduos com DP, e apresentando valores de fidedignidade e de teste/re-teste excelentes (ICC=0,94-0,96) (Luque-Casado et al., 2021). A adição de uma tarefa cognitiva ao teste, aumenta a validade preditiva relacionada com o risco de queda (Çekok et al., 2020). O valor *cut-off* para risco de queda no teste TUG normal, com dupla tarefa motora (DTM) e dupla tarefa cognitiva (DTC) é de 12; 13,2 e 14,7 segundos, respetivamente. O utente não recorreu ao auxiliar de marcha (andariço), aquando da realização deste teste, uma vez que não necessita do mesmo para deslocações de curta distância, como é o caso do teste TUG. Assim, os resultados obtidos são considerados pertinentes para avaliar a mobilidade funcional em curtas distâncias, não devendo, contudo, ser extrapolados para deslocações mais longas, nas quais o indivíduo requer o uso do andariço.

Os dados obtidos na avaliação inicial encontram-se sistematizados na Tabela 2.

At the initial assessment, the participant was cooperative, in a positive disposition, and in the ON phase of medication. The following outcome measures were applied:

Mini-BESTest: evaluates balance across four distinct domains of postural control: anticipatory postural adjustments, reactive postural responses, sensory orientation, and dynamic gait stability, with a maximum score of 28 and a fall-risk cut-off below 21 points (Lopes et al., 2020). The scale comprises 14 items scored from 0 (severe impairment) to 2 (normal). It demonstrates excellent test-retest reliability (ICC=0.92-0.98) (Di Carlo et al., 2016) and a highly significant correlation with the full BESTest (r=0.9555) (Leddy et al., 2011).

TUG test: assesses functional mobility, with a strong association with walking speed and global functional capacity. It is a valid clinical tool in PD with excellent reliability and test-retest consistency (ICC=0.94-0.96) (Luque-Casado et al., 2021). The addition of a cognitive task increases predictive validity for fall risk (Çekok et al., 2020). Fall-risk cut-off values for the standard TUG, TUG with motor dual task (MDT), and TUG with cognitive dual task (CDT) are 12, 13.2, and 14.7 seconds, respectively. The participant performed the test without the rollator, as this assistive device is not required for short-distance ambulation such as that involved in the TUG. These results are therefore pertinent for assessing functional mobility over short distances and should not be extrapolated to longer-distance ambulation, for which the participant requires the rollator.

Initial assessment data are summarized in Table 2.

The physiotherapy diagnosis was as follows: a 79-year-old male individual presenting difficulty performing ADLs independently, such as tying shoelaces; limitations in independent long distance mobility; difficulty ascending

No que concerne ao diagnóstico em Fisioterapia: Indivíduo do sexo masculino, de 79 anos, com dificuldade em realizar Atividades da Vida Diária (AVD) autonomamente como atar os atacadores, restrição na deslocação autónoma a longas distâncias, subir e descer escadas sem apoio, sentar/ levantar, por risco de queda, devido à instabilidade postural, alterações do equilíbrio e controlo postural, rigidez muscular e fraqueza muscular generalizada, resultantes de um diagnóstico de DP.

and descending stairs without support; and difficulty sitting down and standing up due to fall risk associated with postural instability, impaired balance and postural control, muscle rigidity, and generalized muscle weakness resulting from a diagnosis of PD.

Tabela/Table 2: Dados recolhidos de avaliação inicial e avaliação final do participante/Initial and final assessment data.

Parâmetro/ Parameter	Avaliação Inicial/ Initial Assessment	Avaliação final/ Final Assessment	Varição/ Variation	Valores de Referência/ Reference Values
Mini-BESTest (total)/ Mini-BESTest (total)	19/28 s	21/28 s	+2 pontos/points (7,2%)	> 21 pontos/points
TUG sem dupla tarefa/ TUG (no dual task)	10,05 s	10,60 s	+0,55 s (5,5%)	< 12 s
TUG com DTM/ TUG with MDT	10,58 s	11,02 s	+0,44 s (4,2%)	< 13,2 s
TUG com DTC/ TUG with CDT	11,70 s	12,10 s	+0,40 s (3,4%)	< 14,7 s

Legenda/Legend: TUG :Time Up Go test, DTM: dupla tarefa motora; DTC. Dupla tarefa cognitiva, s. segundos/CDT: Cognitive Dual Task; MDT: Motor Dual Task; s: seconds; TUG: Timed Up and Go test.

2.2. PROTOCOLO DE INTERVENÇÃO

O participante foi submetido a um protocolo de intervenção em Fisioterapia, em contexto ambulatorio, baseado em treino de equilíbrio com recurso à tecnologia BlazePod®, ao longo de 8 sessões com a duração de 50 minutos cada, sessões de 1:1, ao longo de 4 semanas (duas sessões semanais de treino de equilíbrio com BlazePod® e uma de Fisioterapia Convencional (exercícios de alongamento, treino de equilíbrio e fortalecimento muscular). As sessões possuíam a seguinte distribuição semanal:

- Segunda-feira e sexta-feira: Treino Cardiorrespiratório + treino de equilíbrio com recurso aos dispositivos BlazePod®
 1. Treino Cardiorrespiratório: 20 minutos de passadeira (3 km/h, 1% de inclinação);
 2. Treino de equilíbrio com recurso à tecnologia BlazePod® - 17 minutos
 - Dois exercícios, 3 séries de 55 segundos cada (Tabela 3);
 - Tempo de descanso entre séries: 1 minuto em que o indivíduo permanece sentado numa cadeira e bebe água, caso relate necessidade;
 - Tempo de descanso entre os dois exercícios: 5 minutos;
 3. Retorno à calma (alongamentos) – 10 minutos
 - Avaliação e monitorização de sinais vitais no início e fim da sessão (Tensão Arterial (TA) e Frequência Cardíaca (FC)) – 3 minutos
- Quarta-feira: Fisioterapia Convencional
 1. Treino Cardiorrespiratório: 20 minutos de passadeira a uma velocidade de 3-3,5 km/h e 1% de inclinação, ou 15 minutos de elíptica ou bicicleta estática;
 2. Treino de equilíbrio em situações dinâmicas: exercícios de alcance e passo lateral recorrendo a

2.2. INTERVENTION PROTOCOL

The participant underwent an outpatient physiotherapy intervention protocol based on balance training using BlazePod® technology, consisting of 8 individual 1:1 sessions of 50 minutes each over four weeks: two weekly BlazePod® balance-training sessions and one conventional physiotherapy session (stretching, balance training, and muscle strengthening). The weekly distribution was as follows:

- Monday and Friday: Cardiorespiratory training + BlazePod® balance training
 1. Cardiorespiratory training: 20 minutes on the treadmill (3 km/h, 1% incline);
 2. BlazePod® balance training - 17 minutes
 - Two exercises, 3 sets of 55 seconds each (Table 3);
 - 1-minute seated rest between sets; 5-minute rest between exercises.
 3. Cool-down (stretching) – 10 minutes
 - Vital signs monitoring (blood pressure (BP) and heart rate (HR)) – 3 minutes
- Wednesday: Conventional Physiotherapy
 1. Cardiorespiratory training: 20 minutes on the treadmill at 3–3.5 km/h and 1% incline, or 15 minutes on the elliptical trainer or stationary bicycle;
 2. Dynamic balance training: reaching and lateral-stepping exercises on unstable surfaces (hedgehog balls, foam platforms, or mini-trampoline), with progressive incorporation of MDT (e.g., ball handling) and a motor-cognitive triple-task (maintaining a ball in hand while enumerating words from specific categories);

plataformas instáveis (como ouriços, plataformas de espuma ou trampolim), com integração progressiva de DTM (tal como manusear uma bola) e tripla tarefa motora-cognitiva (não deixar cair uma bola enquanto enumera palavras de categorias específicas);

3. Treino de mobilidade e transferências de peso: exercícios de báscula anterior da bacia com extensão do tronco e flexão dos ombros na posição de sentado; treino de transferência de peso pósterio-anterior na transição de sentado para de pé, com recurso a resistência externa (bastão de 2kg) e alcance anterior direcionado a alvos (cones); transferências de peso unilaterais com e sem rotação de tronco na posição de sentado ou na posição ortostática;
4. Treino de marcha: treino focado no aumento do comprimento do passo e da base de sustentação, através da ultrapassagem de obstáculos (cones) no solo e na passadeira, com incorporação de DTC (atribuição de categorias associadas às cores dos cones);
5. Treino de fortalecimento muscular: exercícios focados na musculatura anti gravítica dos membros inferiores, incluindo extensão do joelho em equipamento específico (*leg extension* – 3 séries de 15 repetições), bem como exercícios no solo para ativação do glúteo máximo, quadricípites e isquiotibiais (elevação alternada dos membros inferiores e flexão/extensão do joelho contra gravidade, com progressão para resistência manual do terapeuta).

Avaliação e monitorização de sinais vitais no início e fim da sessão (Tensão Arterial (TA) e Frequência Cardíaca (FC)) – 3 minutos.

O protocolo de intervenção proposto para este estudo de caso encontra-se descrito na Tabela 3.

É importante salientar que este protocolo integra múltiplas componentes de intervenção (treino cardiorrespiratório em passadeira, treino de equilíbrio com BlazePod®, alongamentos e fortalecimento muscular). Desta forma, não é possível isolar e atribuir os efeitos observados exclusivamente ao treino com BlazePod®.

3. Mobility and weight-transfer training: anterior pelvic tilt with trunk extension and shoulder flexion in sitting; anteroposterior weight transfer during sit-to-stand, using external resistance (2 kg pole) and directed anterior reaching towards targets (cones); unilateral weight transfers with and without trunk rotation in sitting and standing positions;
4. Gait training: focused on increasing step length and base of support through obstacle clearance (cones) on the floor and treadmill, with incorporation of CDT (assigning categories to cone colors);
5. Muscle strengthening: exercises targeting lower-limb anti-gravity musculature, including knee extension on a leg extension machine (3 sets of 15 repetitions), and floor exercises for gluteus maximus, quadriceps, and hamstring activation (alternating lower-limb raises and knee flexion/extension against gravity, with progression to manual resistance).

Vital signs monitoring at session start and end: 3 minutes.

The intervention protocol is described in detail in Table 3.

It should be noted that this protocol integrates multiple intervention components (treadmill cardiorespiratory training, BlazePod® balance training, stretching, and muscle strengthening). Given this multicomponent design, it is not possible to isolate and attribute the observed effects exclusively to BlazePod® training.

Tabela/Table 3: Protocolo de intervenção do treino de equilíbrio com recurso aos BlazePod®/BlazePod® balance training intervention protocol.

Semana/ Week	Exercício/ Exercise 1	Exercício/ Exercise 2
Semana/ Week 1	Quatro <i>pods</i> dispostos em quadrado, a 20 cm de uma plataforma instável (espuma quadrada). Modo "Random": uma única cor surgia de forma sequencial e aleatória. O utente apagava os estímulos luminosos localizados à esquerda com o MIE e à direita com o MID/ Four pods arranged in a square, 20 cm away from an unstable platform (square foam pad). "Random" mode: a single color appeared sequentially and randomly. The patient deactivated stimuli on the left with the left lower extremity (LLE) and on the right with the right lower extremity (RLE).	Quatro <i>pods</i> dispostos em arco, a 20 cm da plataforma instável (espuma quadrada). Modo "Random": uma única cor surgia de forma sequencial e aleatória. O indivíduo realizava um passo dentro da plataforma em direção ao estímulo, apagando-o com o MIE (os que surgiam à esquerda) ou MID (os que surgiam à direita)/Four pods arranged in an arc, 20 cm away from the unstable platform (square foam pad). "Random" mode: a single color appeared sequentially and randomly. The patient stepped onto the platform towards the stimulus, deactivating it with the LLE (stimuli appearing on the left) or RLE (stimuli appearing on the right).
Semana/ Week 2	Quatro <i>pods</i> dispostos em linha reta, a 15 cm da plataforma instável (espuma retangular), promovendo deslocações laterais dentro da mesma. Modo "Random": Introdução da permissão do cruzamento da linha média e da DTM: elevar MS contralateral ao MI usado para apagar o estímulo/Four pods arranged in a straight line, 15 cm away from the unstable platform (rectangular foam pad), promoting lateral displacements within it. "Random" mode. Midline crossing was permitted; MDT introduced: raising the contralateral upper extremity (UE) to the limb used to deactivate the stimulus.	Cinco <i>pods</i> dispostos em linha reta, a 15 cm da plataforma instável (espuma retangular). Modo "Random": Introdução de cinta com resistência posterior. Manutenção da DTM. O indivíduo desativava os <i>pods</i> através de deslocações laterais e era permitido o cruzamento da linha média/Five pods arranged in a straight line, 15 cm away from the unstable platform (rectangular foam pad). "Random" mode. Introduction of the posterior resistance belt. MDT maintained. The participant deactivated pods via lateral displacements; midline crossing permitted.

<p>Semana/ Week 3</p>	<p>Quatro <i>pods</i> em semicírculo, a 20 cm da plataforma instável (espuma quadrada). Modo "Focus": um pod azul (a desativar) e dois vermelhos (distrativos). Uso da cinta com resistência posterior. Deslocamentos dentro da plataforma e cruzamento da linha média eram permitidos/ Four pods in a semicircle, 20 cm away from the unstable platform (square foam pad). "Focus" mode: one blue pod (to deactivate) and two red distractors. Posterior resistance belt used. Lateral displacements within the platform and midline crossing permitted.</p>	<p>Seis <i>pods</i> dispostos em arco, à frente da plataforma instável – espuma quadrada – (a 20 cm, exceto o mais próximo a 10 cm). Modo "Focus": um pod azul (a desativar) e dois vermelhos (distrativos). Introdução da DTC: nomear um objeto ao apagar a luz azul quando a mesma surgisse no dispositivo mais dianteiro. Uso da cinta de resistência posterior/Six <i>pods</i> in an arc in front of the unstable platform – square foam pad – (20 cm away, except the nearest at 10 cm). "Focus" mode: one blue pod (to deactivate) and two red distractors. CDT introduced: naming an object when deactivating the blue light as it appeared on the most anterior pod. Posterior resistance belt used.</p>
<p>Semana/ Week 4</p>	<p>Cinco <i>pods</i> em semicírculo, a 20 cm da plataforma instável (espuma quadrada). Modo "Random": duas cores surgiam alternada e aleatoriamente. Introdução de DTC com categorias semânticas: Azul – países; Verde – frutas. Com sinal sonoro de uma palma emitida pelo avaliador, invertia-se as categorias associadas às cores/Five pods in a semicircle, 20 cm away from the unstable platform (square foam pad). "Random" mode: two colors appeared alternately and randomly. Introduction of CDT with semantic categories: Blue – countries; Green – fruits. Upon an auditory cue (handclap from the assessor), the category-color associations were reversed.</p>	<p>Mesma disposição e número de <i>pods</i> do exercício 2 da semana anterior. Modo "Random": duas cores surgiam alternada e aleatoriamente; Azul – números ímpares; Verde – profissões. Manutenção da DTC e cinta de resistência posterior. Aumento do desafio: ao colocar um pino no dispositivo mais dianteiro, o indivíduo nomeava uma marca iniciada pela letra indicada pelo avaliador/Same pod arrangement and number as Exercise 2 from the previous week. "Random" mode: two colors appeared alternately and randomly; Blue – odd numbers; Green – professions. CDT and posterior resistance belt maintained. Increased challenge: when stepping onto the most anterior pod, the participant named a brand beginning with a letter indicated by the assessor.</p>
<p>Legenda/Legend: MIE: Membro Inferior Esquerdo; MID: Membro Inferior Direito; DTM: Dupla Tarefa Motora; MS: Membro Superior; MI: Membro Inferior; DTC: Dupla Tarefa Cognitiva/CDT: Cognitive Dual Task; LE: Lower Extremity; LLE: Left Lower Extremity; MDT: Motor Dual Task; RLE: Right Lower Extremity; UE: Upper Extremity.</p>		

3. RESULTADOS

A reavaliação foi realizada após as 4 semanas de intervenção. Os resultados da avaliação inicial e da final encontram-se representados na Tabela 2.

O Mini-BESTest revelou aumento do *score* total de 19/28 (67,85%) para 21/28 (75%), ultrapassando o *cut-off* para risco de queda. Destacaram-se aumentos nos ajustes posturais compensatórios para trás (classificação de 0 para 1, necessitando agora de apenas três passos para recuperar o equilíbrio) e na orientação sensorial, que atingiu a pontuação total. Por outro lado, o *subscore* da Estabilidade na Marcha apresentou ligeira redução devido à interferência de dupla tarefa cognitiva.

Na mobilidade funcional, o teste TUG em todas as suas variantes revelou um ligeiro aumento no tempo total de realização da tarefa, porém nunca superior a 0,55 segundos, mantendo-se consistentemente abaixo do *cut-off* para risco de queda.

Durante as sessões com BlazePod®, foram ainda monitorizados parâmetros como sinais vitais no início e fim das sessões, número de *hits* nos dispositivos e tempo de reação em cada série, bem como o número de respostas erradas e não nomeadas quando incorporada a DTC (Tabela 4).

A monitorização dos sinais vitais revelou valores de FC basal (antes do treino na passadeira) que variaram entre 56 e 73 bpm. É importante notar que o aquecimento realizado na passadeira pode ter influenciado os valores de FC registados antes do treino com BlazePod®.

3. RESULTS

Reassessment was conducted following the four-week intervention. Initial and final assessment results are presented in Table 2.

Mini-BESTest revealed an increase in the total score from 19/28 (67.85%) to 21/28 (75%), exceeding the fall-risk cut-off. Notable improvements were recorded in backward compensatory postural adjustments (shifting from a score of 0 to 1, with the participant now requiring only three steps to regain balance) and in sensory orientation, which reached the maximum subscore. In contrast, the gait stability subscore showed a slight reduction attributable to cognitive dual-task interference.

Regarding functional mobility, the TUG test across all conditions showed a marginal increase in total task completion time, never exceeding 0.55 seconds, and remained consistently below the fall-risk cut-off across all variants.

During the BlazePod® sessions, additional parameters were monitored, including vital signs at session start and end, number of device hits and reaction time per set, as well as the number of incorrect or unnamed responses under CDT conditions (Table 4).

Vital signs monitoring revealed resting HR values (recorded prior to the treadmill warm-up) ranging from 56 to 73 bpm. It should be noted that the treadmill warm-up may have influenced the HR values recorded prior to the BlazePod®

Tabela/Table 4: Parâmetros monitorizados durante as sessões com BlazePod®/Parameters monitored during BlazePod® sessions.

Semana/ Week 1	Semana/ Week 2	Semana/ Week 3	Semana/ Week 4
<p>Dia 1 (segunda-feira)/ Day 1 (Monday) TA e FC/BP and HR: Início/Start: 149/63 mmHg; 65 bpm Fim/End: 156/85mmHg; 74 bpm</p> <p>Exercício 1: Hits: 28; 15; 32. Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 1,9; 3,5; 1,7.</p> <p>Exercício 2: Hits: 25; 28; 26. Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 2,1; 2,1; 2,0.</p>	<p>Dia 3 (segunda-feira)/ Day 3 (Monday) TA e FC/BP and HR: Início/Start: 117/76 mmHg; 61 bpm Fim/End: 123/69 mmHg; 96 bpm</p> <p>Exercício 1: Hits: 17; 25; 28 Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 3,2; 2,1; 1,9</p> <p>Exercício 2: Hits: 19; 24; 23 Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 2,8; 2,2; 2,3</p>	<p>Dia 5 (segunda-feira)/ Day 5 (Monday) TA e FC/BP and HR: Início/Start: 125/72 mmHg; 64 bpm Fim/End: 130/75 mmHg; 84 bpm/</p> <p>Exercício 1: Hits: 16; 18; 23. Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 2,9; 2,8; 2,3. Nº de luzes vermelhas (proibidas) tocadas/ No. of red (forbidden) lights activated: 5, 4, 2.</p> <p>Exercício 2: Hits: 23; 27; 24 Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 2,3; 2,0; 2,1 Nº de luzes vermelhas (proibidas) tocadas/ No. of red (forbidden) lights activated: 3, 2, 3 Nº de respostas erradas na DTC/No. of incorrect CDT responses: 3</p>	<p>Dia 7 (segunda-feira)/ Day 7 (Monday) TA e FC/BP and HR: Início/Start: 125/66 mmHg; 65 bpm Fim/End: 127/76 mmHg; 76 bpm</p> <p>Exercício 1: Hits: 15; 17; 18. Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 3,3; 3,2; 2,9. DTC: 4 respostas erradas e 5 não nomeadas/ CDT: 4 incorrect, 5 unnamed</p> <p>Exercício 2: Hits: 14; 14; 12. Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 4,4; 4,4; 3,3. DTC: 4 respostas erradas e 2 não nomeadas/ CDT: 4 incorrect, 2 unnamed.</p>
<p>Dia 2 (sexta-feira)/ Day 2 (Friday) TA e FC/BP and HR: Início/Start: 108/65 mmHg; 64 bpm Fim/End: 113/74 mmHg; 86 bpm</p> <p>Exercício/Exercise 1: Hits: 22; 21; 18. Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 2,3; 2,5; 3,0.</p> <p>Exercício/Exercise 2: Hits: 20; 25; 24. Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 2,7; 2,1; 2,1.</p>	<p>Dia 4 (sexta-feira)/ Day 4 (Friday) TA e FC/BP and HR: Início/Start: 131/83 mmHg; 64 bpm Fim/End: 133/74 mmHg; 84 bpm</p> <p>Exercício/Exercise 1: Hits: 21; 23; 25 Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 2,6; 2,3; 2,2</p> <p>Exercício/Exercise 2: Hits: 24; 27; 32 Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 2,3; 2,0; 1,7</p>	<p>Dia 6 (sexta-feira)/ Day 6 (Friday) TA e FC/BP and HR: Início/Start: 128/79 mmHg; 73 bpm Fim: 113/75 mmHg; 70 bpm</p> <p>Exercício/Exercise 1: Hits: 19; 21; 24. Tempo de reação (s): 2,8; 2,4; 2,0. Nº de luzes vermelhas (proibidas) tocadas/ No. of red (forbidden) lights activated: 2, 1, 6.</p> <p>Exercício/Exercise 2: Hits: 24; 26; 25. Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 2,3; 2,0; 2,0. Nº de luzes vermelhas (proibidas) tocadas/ No. of red (forbidden) lights activated: 1, 6, 6. Nº de respostas erradas na DTC/No. of incorrect CDT responses: 2</p>	<p>Dia 8 (quarta-feira)/ Day 8 (Friday) TA e FC/BP and HR: Início/Start: 129/71 mmHg; 56 bpm Fim/End: 138/82 mmHg; 70 bpm</p> <p>Exercício/Exercise 1: Hits: 12; 14; 16. Tempo de reação (s): 4,0; 3,6; 3,4. DTC: 3 respostas erradas e 3 não nomeadas/ CDT: 3 incorrect and 3 unnamed.</p> <p>Exercício/Exercise 2: Hits: 9; 10; 9. Tempo de reação (s)/ Reaction Time (s): 6,1; 8,8; 8,3. DTC: 3 respostas erradas e 2 não nomeadas/ CDT: 3 incorrect and 2 unnamed.</p>

4. DISCUSSÃO

O presente estudo de caso teve como objetivo descrever um protocolo de intervenção, que integrou treino de equilíbrio com tecnologia BlazePod®, na intervenção de um indivíduo com DP.

O protocolo implementado é composto por várias componentes, integrando treino cardiorrespiratório em passadeira, treino de equilíbrio com BlazePod® e fisioterapia convencional. Tal como o estudo foi delineado, não é possível assegurar que os efeitos observados sejam atribuíveis especificamente ao BlazePod®. A ausência de uma condição de controlo ou de uma análise isolada de cada componente limita a validade das conclusões sobre a eficácia específica do treino com BlazePod®.

Assim, cada componente do protocolo possui fundamentação científica própria que pode ter contribuído para os resultados observados. O treino cardiorrespiratório em passadeira demonstra benefícios na função motora e plasticidade cerebral na DP (M. E. Johansson *et al.*, 2022), promovendo neurogênese e angiogênese. O fortalecimento muscular e treino de equilíbrio em superfícies instáveis (fisioterapia convencional) são eficazes na melhoria da estabilidade postural (Radder *et al.*, 2017). Os alongamentos contribuem para a manutenção da amplitude de movimento, frequentemente comprometida pela rigidez característica da DP (Borrione *et al.*, 2014). Assim, as melhorias observadas refletem, provavelmente, o efeito sinérgico

training component.

4. DISCUSSION

The aim of this case report was to describe a physiotherapy intervention protocol integrating BlazePod® balance training in an individual with PD.

The implemented protocol comprised multiple components, including treadmill cardiorespiratory training, BlazePod® balance training, and conventional physiotherapy. As designed, the study does not allow attribution of the observed effects specifically to BlazePod® training. The absence of a control condition or an isolated analysis of each component limits the validity of conclusions regarding the specific efficacy of BlazePod® based training.

Each protocol component has its own scientific rationale that may have contributed to the observed outcomes. Treadmill cardiorespiratory training has demonstrated benefits in motor function and neuroplasticity in PD (M. E. Johansson *et al.*, 2022), promoting neurogenesis and angiogenesis. Muscle strengthening and balance training on unstable surfaces (conventional physiotherapy) are effective in improving postural stability (Radder *et al.*, 2017). Stretching contributes to the maintenance of range of motion, which is frequently compromised by the rigidity characteristic of PD (Borrione *et al.*, 2014). The improvements observed are therefore likely to reflect the synergistic effect of these components and cannot

destes componentes, não podendo ser atribuídas isoladamente ao treino com BlazePod®.

A realização de avaliações subjetivas e objetivas permitiu identificar os principais problemas e definir os objetivos de intervenção. O protocolo de intervenção foi estruturado de acordo com os objetivos do presente estudo e fundamentado na evidência científica atualmente disponível. O mesmo teve a duração de quatro semanas, com três sessões de fisioterapia semanais (duas de treino de equilíbrio com BlazePod® e uma de fisioterapia convencional), cada uma com a duração de 50 minutos.

Após a reavaliação, verificaram-se melhorias na medida primária, uma vez que o indivíduo deixou de apresentar risco de queda, evidenciado por uma pontuação total de 21/28 no Mini-BESTest (Lopes *et al.*, 2020). O aumento da pontuação evidenciou-se pela obtenção do valor máximo no *subscore* da orientação sensorial e pela melhoria na resposta do passo compensatório para trás, sendo que na reavaliação, o indivíduo demonstrou capacidade de executar três passos para restabelecer o equilíbrio, face à avaliação inicial, na qual não era capaz de dar um único passo. Na medida secundária, referente à mobilidade funcional, não se observaram variações relevantes nos resultados do teste TUG sem dupla tarefa nem na versão com DTM. Contudo, foi registada uma variação negativa de 0,4 segundos na versão com DTC, sugerindo um ligeiro aumento da interferência cognitiva na execução da tarefa. A comparação entre os resultados obtidos e os *cut-off* (Vance *et al.*, 2015) do teste TUG, sugerem que o indivíduo não apresenta risco de queda.

No exercício 1 do dia 2 da intervenção, observou-se uma diminuição do número de acertos (*hits*) e um aumento progressivo do tempo de reação ao longo das séries, possivelmente associado a um quadro de fadiga. Esta pode ter origem multifatorial, incluindo fatores extrínsecos à intervenção (como qualidade de sono ou estado emocional) ou intrínsecos ao próprio protocolo (acumulação de fadiga ao longo das séries). A não monitorização destes fatores constitui uma limitação do presente estudo, dificultando a interpretação precisa destas variações. Na semana 3, registou-se um decréscimo gradual no número de estímulos luminosos vermelhos tocados com a repetição das séries. Contudo, esse número nunca se aproximou de zero, o que poderá ser justificado pela presença de bradicinesia, sintoma motor característico do estágio 3 da DP, segundo a classificação de Hoehn e Yahr.

Já na semana 4, no segundo dia de intervenção, não foi possível iniciar a sessão com o treino cardiorrespiratório na passeadeira, em virtude da indisponibilidade temporária do equipamento no horário previsto. Assim, iniciou-se a sessão pelos exercícios de treino de equilíbrio com BlazePod®. Esta alteração poderá ter influenciado negativamente o desempenho do indivíduo com DP face ao primeiro dia de intervenção da mesma semana, refletindo-se numa diminuição do número *hits* e num aumento significativo do tempo de reação. Observou-se também maior interferência cognitiva durante a execução da tarefa de DTC no segundo exercício, nomeadamente na nomeação de marcas, que se agravava com a repetição, possivelmente também associada à fadiga acumulada.

Foram introduzidas progressões nos exercícios, com o intuito de aumentar gradualmente o nível de dificuldade e

be attributed to BlazePod® training in isolation.

The application of subjective and objective assessments enabled identification of the primary presenting problems and establishment of intervention objectives. The protocol was structured in accordance with the study aims and grounded in the best available evidence, delivered over four weeks comprising three weekly physiotherapy sessions (two of BlazePod® balance training and one of conventional physiotherapy), each lasting 50 minutes.

Following reassessment, improvements were observed in the primary outcome: the participant no longer met the criteria for fall risk, as evidenced by a Mini-BESTest total score of 21/28 (Lopes *et al.*, 2020). Score improvements were attributable to obtaining the maximum sensory orientation subscore and to improved backward compensatory step response – the participant demonstrated the capacity to take three steps to restore balance at reassessment, compared to an inability to take even a single step at baseline. Regarding the secondary outcome of functional mobility, no meaningful changes were observed in TUG performance under single-task or MDT conditions. A negative variation of 0.4 seconds was recorded under the CDT condition, suggesting a slight increase in cognitive interference during task execution. Comparison with established cut-off values (Vance *et al.*, 2015) suggested the absence of fall risk across all TUG variants.

In exercise 1 on day 2, a decrease in the number of hits and a progressive increase in reaction time across sets were observed, potentially indicative of fatigue. This may have had a multifactorial origin, including extrinsic factors (e.g., sleep quality or emotional state) and protocol-intrinsic factors (e.g., cumulative fatigue across sets). The absence of systematic monitoring for these variables constitutes a limitation of the present study. In week 3, a gradual decrease in the number of red inhibitory stimuli successfully avoided was noted across repeated sets; however, this number never approached zero, which may be partly explained by bradykinesia – a cardinal motor feature of stage 3 PD according to the Hoehn and Yahr classification.

In week 4, on the second session day, it was not possible to start the session with the treadmill cardiorespiratory component due to temporary equipment unavailability. The session therefore began directly with the BlazePod® balance exercises. This alteration may have adversely affected performance relative to the first session of that week, reflected in a reduced number of hits and a marked increase in reaction time. Greater cognitive interference was also observed during CDT performance in the second exercise, particularly in the brand-naming task, which worsened with set repetition, potentially also attributable to accumulated fatigue.

Progressive exercise modifications were introduced to incrementally increase task difficulty and integrate components relevant to the targeted objectives. The introduction of a long, rectangular unstable platform aimed to challenge dynamic postural control, requiring continuous center-of-mass adjustments during lateral displacement while simultaneously counteracting the tendency for short steps. The posterior resistance belt was particularly relevant in mitigating the participant's retropulsive tendency, actively

integrar componentes relevantes para o alcance dos objetivos delineados. A introdução de uma plataforma instável, de formato retangular e comprido, teve como finalidade desafiar o controlo postural dinâmico, exigindo ajustes contínuos do centro de massa durante movimentos de deslocação lateral, contrariando simultaneamente a tendência para passos curtos. A utilização da cinta com resistência posterior demonstrou ser particularmente relevante, ao contribuir para a mitigação da tendência do indivíduo para retropulsão, enquanto promoveu respostas de ajuste postural compensatório (APC). A adição de um dispositivo em determinados exercícios, teve como objetivo aumentar a complexidade sensorio-motora da tarefa, implicando maior exigência na integração visuoespacial e na capacidade de atenção seletiva. A alteração do modo de funcionamento do sistema, passando de "Random" para "Focus", isto é, passando de um modo com uma só luz de uma só cor para um modo em que é possível introduzir mais do que uma cor no desafio, possibilitou a introdução de estímulos distrativos, exigindo a capacidade de selecionar o estímulo relevante, promovendo assim a atenção seletiva e a discriminação visual. Por fim, a implementação de tarefas em DTC visou simular contextos funcionais do quotidiano, nos quais os domínios do equilíbrio e da cognição são simultaneamente solicitados (Kiss *et al.*, 2018).

De acordo com Fernandes *et al.* (2021), exercícios de dupla tarefa envolvem a execução de uma atividade principal, que é o principal foco de atenção, e uma atividade secundária em simultâneo. Neste contexto, os sistemas motor e cognitivo atuam reciprocamente para garantir efeitos mais pronunciados. Adicionalmente, este estudo sobre os efeitos do exercício físico de dupla tarefa demonstrou impactos positivos sobre a instabilidade postural em indivíduos com DP, através da integração multissensorial durante tarefas complexas, permitindo ajustes corporais mais eficazes face a perturbações do equilíbrio (Ferrè *et al.*, 2015; Gabriel *et al.*, 2022). O treino de dupla tarefa desafia o sistema nervoso central a processar e integrar simultaneamente *inputs* de diferentes sistemas sensoriais, promovendo a plasticidade neural e a eficiência dos mecanismos compensatórios (Gabriel *et al.*, 2022). Este quadro teórico auxilia na interpretação dos resultados obtidos no presente estudo de caso, particularmente nas melhorias observadas na integração sensorial. A pontuação máxima alcançada pelo indivíduo no *subscore* de Orientação Sensorial da Mini-BESTest pode ser compreendida como resultado direto desta interação recíproca entre os sistemas motor e cognitivo durante o treino.

O protocolo implementado neste estudo de caso, que combinou estímulos visuais reativos com progressões de complexidade, alinha-se com o estudo de Rosa *et al.* (2024), que destacou que a dupla tarefa representa uma maior exigência no planeamento do movimento. Esta pode explicar a ligeira variação negativa observada no teste TUG com DTC, sugerindo que, apesar da melhoria global no equilíbrio, a integração de tarefas cognitivas e motoras simultâneas continua a representar um desafio para o sistema de controlo motor do indivíduo com DP.

A interseção entre treino de dupla tarefa e pistas visuais constitui uma área de investigação com potencial relevância clínica, embora os dados disponíveis, incluindo os do presente

facilitating compensatory postural adjustment (CPA) responses. The addition of a pod in certain exercises aimed to increase the sensorimotor complexity of the task, placing greater demands on visuospatial integration and selective attention. Transitioning the system mode from "Random" to "Focus", that is, from a single-color, single-light mode to one admitting multiple colors, introduced distracting stimuli, requiring discrimination of the relevant cue and thereby promoting selective attention and visual discrimination. Finally, the implementation of CDT conditions was designed to simulate functional real-world contexts in which balance and cognition are simultaneously engaged (Kiss *et al.*, 2018).

According to Fernandes *et al.* (2021), dual-task exercises involve the concurrent execution of a primary activity and a secondary activity. In this context, the motor and cognitive systems interact reciprocally to produce more pronounced effects. The same study demonstrated positive impacts of dual-task physical exercise on postural instability in PD through multisensory integration during complex tasks, enabling more effective body adjustments in response to balance perturbations (Ferrè *et al.*, 2015; Gabriel *et al.*, 2022). Dual-task training challenges the central nervous system to simultaneously process and integrate inputs from multiple sensory systems, promoting neural plasticity and the efficiency of compensatory mechanisms (Gabriel *et al.*, 2022). This theoretical framework assists in interpreting the results of this case report, particularly the improvements in sensory integration. The maximum score achieved on the sensory orientation subscore of the Mini-BESTest may be understood as a direct consequence of this reciprocal motor-cognitive interaction during training.

The protocol implemented in this case report, combining reactive visual stimuli with progressive complexity, aligns with the findings of Rosa *et al.* (2024), who highlighted that dual-task conditions impose greater demands on movement planning. This may account for the slight negative variation observed in the TUG with CDT, suggesting that, despite the overall improvement in balance, the concurrent engagement of cognitive and motor processes remains a significant challenge for the motor control system of individuals with PD.

The intersection of dual-task training and visual cueing represents a potentially clinically relevant area of investigation, although the available evidence, including the ones of the present study, does not yet permit definitive conclusions regarding its efficacy. Nevertheless, the improvement observed in backward reactive postural responses is consistent with the findings of a perturbation-based balance training study, which reported more stable postural responses in individuals with PD (Souza *et al.*, 2023). That study documented reductions in center-of-pressure displacement, velocity, and directional reversal time, as well as a reduction in near-falls following the intervention.

This body of evidence on the efficacy of visual cueing in PD rehabilitation establishes the theoretical basis for understanding the mechanisms underlying the improvements observed in this study, particularly with respect to postural adjustments. CPAs are reactive responses triggered by sensory feedback signals following a balance perturbation (Yelshyna *et al.*, 2016), and are critical for fall prevention, though their efficacy is diminished in

estudo, não permitam ainda conclusões definitivas sobre a sua eficácia. Ainda assim, a melhoria observada nas respostas posturais reativas para trás vai ao encontro dos resultados de um estudo sobre treino de equilíbrio baseado em perturbação, que demonstrou respostas posturais mais estáveis em indivíduos com DP (Souza *et al.*, 2023). Este estudo relatou uma diminuição do deslocamento do centro de pressão, velocidade e tempo para reversão da direção, bem como redução no número de quase-quedas após a intervenção.

Este conjunto de evidências sobre a eficácia das pistas visuais na intervenção em DP estabelece a fundamentação teórica para compreender os mecanismos subjacentes às melhorias observadas no presente estudo, particularmente nos ajustes posturais. Os APC são respostas reativas desencadeadas por sinais de *feedback* sensorial que ocorrem após uma perturbação no equilíbrio (Yelshyna *et al.*, 2016), sendo cruciais para evitar quedas, embora menos eficazes em indivíduos com DP, possivelmente devido à bradicinesia e rigidez dos mesmos, o que reduz os seus limites de estabilidade.

No presente estudo, a utilização dos dispositivos BlazePod® proporcionou estímulos visuais dinâmicos e imprevisíveis que desafiaram o sistema de controlo postural do indivíduo. A melhoria observada na pontuação total do Mini-BESTest (de 67,85% para 75%) pode ser compreendida à luz desta relação entre estímulos visuais e ajustes posturais. A utilização da cinta com resistência posterior durante os exercícios foi particularmente relevante para contrariar a tendência de retroulsão do indivíduo, promovendo ativamente respostas de APC.

Adicionalmente, o estudo de Pelicioni *et al.* (2023) demonstra que a combinação de treino de passos reativos e volitivos pode melhorar a recuperação do equilíbrio após uma perturbação induzida e o tempo de reação do passo voluntário, sugerindo redução do número de quedas em utentes com DP. Nesse sentido, a implementação dos BlazePod® exige respostas rápidas a estímulos visuais inesperados (por exemplo, tocar no *pod* iluminado após uma perturbação) e movimentos intencionais controlados, como deslocar-se até um *pod* iluminado ou mudar de direção conforme os estímulos visuais surgem. Paralelamente, este equipamento permite delinear tarefas que desafiem a estabilidade postural (alcançar *pods* iluminados durante deslocações dinâmicas), estimulando os sistemas neuromusculares responsáveis pelo controlo postural e, assim, compensando os tempos de reação mais lentos frequentemente observados na DP.

Para indivíduos com déficit de equilíbrio, como idosos e indivíduos com DP, os BlazePod® podem ser estrategicamente posicionados a diferentes distâncias, incentivando a transferência do peso para além da base de sustentação. Esta dinâmica promove um treino que desafia o equilíbrio e controlo postural, estimulando os APC e os ajustes posturais antecipatórios, necessários para a manutenção da estabilidade. Esta combinação de tecnologia avançada e cuidados personalizados reflete a evolução da fisioterapia ao oferecer abordagens inovadoras que aprimoram a experiência e os resultados da reabilitação (Upstream Rehabilitation, 2025).

Embora a literatura recomende cinco sessões semanais para pistas visuais (Han *et al.*, 2023; Kearney *et al.*, 2019), o

PD, possibly due to bradykinesia and rigidity, which reduce the individual's stability limits.

In this study, the BlazePod® devices provided dynamic and unpredictable visual stimuli that challenged the participant's postural control system. The improvement in Mini-BESTest total score (from 67.85% to 75%) can be understood within the framework of this relationship between visual stimuli and postural adjustments. The posterior resistance belt used during exercises was particularly relevant in counteracting the participant's retropulsive tendency, actively facilitating CPA responses.

Pelicioni *et al.* (2023) demonstrated that combined reactive and volitional step training can improve balance recovery following induced perturbations and reduce voluntary step reaction time, suggesting a reduction in fall frequency in PD. In this regard, BlazePod® training demands rapid responses to unexpected visual stimuli (e.g., deactivating an illuminated pod following a perturbation) and controlled intentional movements, such as moving towards an illuminated pod or changing direction in response to visual cues. Furthermore, this equipment allows the design of tasks that challenge postural stability (reaching for illuminated pods during dynamic displacements), stimulating the neuromuscular systems responsible for postural control and thereby compensating for the slower reaction times frequently observed in PD.

In individuals with balance deficits, such as older adults and those with PD, BlazePod® devices may be strategically positioned at varying distances to encourage weight transfer beyond the base of support. This promotes training that challenges balance and postural control while stimulating both CPA and anticipatory postural adjustment responses necessary for maintaining stability. This combination of advanced technology and personalized care reflects the evolution of physiotherapy in offering innovative approaches that enhance the rehabilitation experience and outcomes (Upstream Rehabilitation, 2025).

Although the literature recommends five weekly sessions for visual cueing interventions (Han *et al.*, 2023; Kearney *et al.*, 2019), this case report suggests that a multicomponent protocol administered three times per week may nonetheless yield meaningful balance improvements.

This case report results illustrate how BlazePod® may serve as a promising tool for operationalizing evidence-based balance training principles in PD. By integrating visual stimuli, postural adjustment challenges, and dual-task conditions, the implemented protocol addressed multiple underlying deficits associated with postural instability in PD simultaneously. This participant-centered approach yielded clinically meaningful improvements in overall balance and, specifically, in the capacity to generate effective reactive postural responses.

Interpretation of the results should consider the participant's functional profile at baseline. Despite stage 3 classification on the Hoehn and Yahr scale, the participant exhibited relatively preserved TUG values (10.05 seconds at baseline), below the fall-risk cut-off (>12 seconds). This favorable baseline functional performance may have constrained the potential for further improvement, accounting for the modest changes observed in TUG performance. In contrast, the initial Mini-BESTest score (19/28) fell below the cut-off (21 points),

presente estudo sugere que um protocolo multicomponente aplicado três vezes por semana pode originar melhorias no equilíbrio.

Os resultados deste estudo de caso evidenciam como os BlazePod® constituem uma ferramenta promissora para a operacionalização dos princípios de treino de equilíbrio baseados em evidência na DP. Ao integrar estímulos visuais, desafios aos ajustes posturais e dupla tarefa, o protocolo implementado conseguiu abordar simultaneamente múltiplos défices subjacentes à instabilidade postural, característica da DP. Esta abordagem personalizada às necessidades específicas do utente, resultou em melhorias clinicamente relevantes no equilíbrio global e, especificamente, na capacidade de gerar respostas posturais reativas eficazes.

A interpretação dos resultados deve considerar o perfil funcional inicial do indivíduo. Apesar do estágio 3 de Hoehn e Yahr, o indivíduo apresentava valores de TUG relativamente preservados (10,05 segundos na avaliação inicial), inferiores ao *cut-off* de risco de queda (>12 segundos). Este bom desempenho funcional de base pode ter limitado a margem de melhoria possível, o que explica as alterações modestas observadas no teste TUG. Por outro lado, a pontuação inicial no Mini-BESTest (19/28) situava-se abaixo do *cut-off* (21 pontos), sugerindo maior margem para progressão neste domínio, o que efetivamente se verificou.

Apesar das melhorias evidentes na estabilidade postural, salienta-se a discrepância observada entre os instrumentos de avaliação, nomeadamente a estagnação (e ligeiro agravamento com DTC) no teste TUG, em contraste com a evolução positiva no Mini-BESTest. Esta divergência pode ser explicada pelas diferentes dimensões que cada instrumento avalia. O teste TUG é uma medida global de mobilidade funcional e velocidade, estando fortemente dependente da locomoção linear e de transferências rápidas. Por outro lado, o Mini-BESTest avalia o controlo postural de forma multifatorial, sendo capaz de identificar ganhos em sistemas específicos que não se refletem necessariamente no tempo de marcha (Caronni *et al.*, 2023). No presente caso, o paciente apresentou melhorias expressivas na orientação sensorial e nas respostas posturais reativas, sendo estes domínios nos quais o Mini-BESTest demonstrou recentemente ser o preditor clínico mais forte e sensível a pequenas alterações na DP, não apresentando o efeito teto (*ceiling effect*) que frequentemente limita outras ferramentas em estágios iniciais e intermédios da doença (Löfgren *et al.*, 2014).

Adicionalmente, os resultados no teste TUG devem ser interpretados à luz de variáveis intrínsecas ao participante, nomeadamente a presença de comorbilidades e o impacto da dupla tarefa. O paciente possui um historial de PTA bilaterais, cuja alteração biomecânica pode limitar o ganho de velocidade e agilidade exigido no teste TUG, mascarando potenciais ganhos no equilíbrio. Estudos recentes em indivíduos com DP demonstram que as fases de transição e rotação do teste TUG são as mais severamente penalizadas pela introdução de uma DTC, prolongando significativamente a duração total do teste (Caronni *et al.*, 2025; H. Johansson *et al.*, 2025). Associado a isto, fatores como a adoção de uma marcha mais cautelosa como estratégia compensatória, especialmente em situações de

indicating greater scope for progression in this domain, which was indeed observed.

Despite the evident improvements in postural stability, it is important to highlight the discrepancy observed between the assessment tools, namely the stagnation (and slight deterioration under DTC conditions) in the TUG test, in contrast to the positive progression observed in the Mini-BESTest. This divergence may be explained by the different dimensions each instrument captures. The TUG is a global measure of functional mobility and speed, heavily dependent on linear locomotion and rapid transfers. The Mini-BESTest, by contrast, assesses postural control in a multifactorial manner, capable of detecting gains in specific subsystems that do not necessarily manifest in walking speed (Caronni *et al.*, 2023). In this case, the participant showed marked improvements in sensory orientation and reactive postural responses – domains in which the Mini-BESTest has recently been demonstrated to be the most clinically sensitive predictor of small changes in PD, without the ceiling effect that frequently limits other tools in early-to-intermediate disease stages (Löfgren *et al.*, 2014).

Furthermore, TUG results must be interpreted in the context of participant-specific intrinsic variables, particularly comorbidities and the impact of dual-task demands. The participant's history of bilateral THA, and the associated biomechanical alterations, may have constrained gains in the speed and agility required for TUG performance, thereby masking potential balance improvements. Recent evidence in PD indicates that the turning and transition phases of the TUG are most severely affected by CDT introduction, significantly prolonging total test duration (Caronni *et al.*, 2025; H. Johansson *et al.*, 2025). Additionally, the adoption of a more cautious gait as a compensatory strategy, particularly under dual-task conditions where cognitive interference amplifies motor fluctuations, justifies the maintenance of execution times, suggesting that the intervention impacted reactive control subsystems without altering overall functional speed (Nonnekens *et al.*, 2018).

The methodological limitations inherent to this study must be acknowledged. As a case report, the absence of a control group precludes the establishment of causal-effect relationships between BlazePod® intervention and the observed improvements. With only a single participant, the results cannot be generalized to the broader PD population, as individual response to intervention may vary according to disease stage, age, fall history, and associated comorbidities. The absence of validated protocols for BlazePod® balance training in the scientific literature, combined with the limited generalizability inherent to case-report designs, reinforces the need for studies with greater methodological rigor, specifically randomized controlled trials with representative samples, to inform evidence-based clinical decisions and to validate the long-term retention of intervention gains. Despite this gap in validated specific protocols, BlazePod® intervention represents a promising future area of investigation.

5. CONCLUSIONS

This case report described a protocol integrating balance training using BlazePod® technology. The combination of

dupla tarefa onde a interferência cognitiva agrava as flutuações motoras, justificam a manutenção dos tempos de execução, concluindo-se que a intervenção impactou os subsistemas de controlo reativo sem alterar a velocidade funcional global (Nonnekes *et al.*, 2018).

Não obstante, é fundamental reconhecer as limitações metodológicas inerentes a este estudo. Por se tratar de um estudo de caso, a ausência de um grupo controlo impossibilita estabelecer relações de causa-efeito entre a intervenção com BlazePod® e as melhorias observadas. Por se tratar de um único participante, os resultados não podem ser generalizados para toda a população com DP, uma vez que a resposta à intervenção pode variar entre indivíduos, dependendo de fatores como estágio da doença, idade, histórico de quedas e comorbidades associadas. A ausência de protocolos validados para treino de equilíbrio com tecnologia BlazePod® na literatura científica, aliada às limitações inerentes aos estudos de caso em termos de generalização de resultados, reforça a necessidade de desenvolver estudos com maior rigor metodológico, como ensaios clínicos randomizados com amostras representativas, para fundamentar decisões clínicas baseadas em evidência consistente e validar a eficácia desta intervenção na retenção de ganhos a longo prazo. Assim, apesar da lacuna no que concerne a protocolos validados específicos, a intervenção com BlazePod® poderá ser uma futura área de estudo promissora.

5. CONCLUSÕES

Este estudo de caso descreveu um protocolo que integrou treino de equilíbrio com recurso à tecnologia BlazePod®. A combinação de estímulos visuais, desafios de ajustes posturais e dupla tarefa sugere uma abordagem que possibilita diminuir a instabilidade postural associada à DP, reduzindo possivelmente o risco de queda.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não existir conflitos de interesse. Não receberam qualquer tipo de financiamento para a realização do presente caso clínico.

O consentimento informado, devidamente preenchido pelo doente, foi entregue à revista *RevSALUS* como material suplementar a não publicar.

CONTRIBUIÇÕES AUTORAIS

Conceptualização, M.J., B.S. e C.S.; metodologia, M.J., B.S. e C.S.; software, M.J. e B.S.; validação, M.J., B.S. e C.S.; análise formal, M.J. e C.S.; investigação, M.J.; recursos, M.J. e B.S.; curadoria de dados, M.J. e C. S.; redação - preparação do draft original, M.J.; redação - revisão e edição, M.J., B.S., C.S.; visualização, M.J., B.S. e C.S.; supervisão, C.S.; coordenação do projeto, B.S. e C.S.; Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

visual stimuli, postural adjustment challenges, and dual-task conditions suggests an approach capable of attenuating the postural instability associated with PD, with potential to reduce fall risk.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare no conflicts of interest. No funding was received for the execution of this clinical case. The informed consent form, duly completed by the patient, was submitted to the journal *RevSALUS* as supplementary material not intended for publication.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization, M.J., B.S. e C.S.; methodology, M.J., B.S. e C.S.; software, M.J. e B.S.; validation, M.J., B.S. e C.S.; formal analysis, M.J. e C.S.; investigation, M.J.; resources, M.J. e B.S.; data curation, M.J. e C. S.; writing - original draft preparation, M.J.; writing - review and editing, M.J., B.S., C.S.; visualization, M.J., B.S. e C.S.; supervision, C.S.; project coordination, B.S. e C.S.. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.





REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- Arroyo-Ferrer A, Andreo J, Periañez J. A, Ríos-Lago M, Lubrini G, Herreros-Rodríguez J, García-Caldentey J, Romero J. P. Computerized Simple Reaction Time and Balance in Nondemented Parkinson's Patients. *Neurodegenerative Diseases*, 20(5–6), 193–199, 2020.
- Balestrino R, Schapira A. H. V. Parkinson disease. *European Journal of Neurology*, 27(1), 27–42, 2020.
- Barbosa A. F, Chen J, Freitag F, Valente D, Souza C. D. O, Voos M. C, Chien H. F. Gait, posture and cognition in Parkinson's disease. *Dementia & Neuropsychologia*, 10(4), 280–286, 2016.
- Borrione P, Tranchita E, Sansone P, Parisi A. Effects of physical activity in Parkinson's disease: A new tool for rehabilitation. *World Journal of Methodology*, 4(3), 133–143, 2014.
- Cabreira V, Massano J. Doença de Parkinson: Revisão Clínica e Atualização. *Acta Médica Portuguesa*, 32(10), 661–670, 2019.
- Caronni A, Amadei M, Diana L, Sangalli G, Scarano S, Perucca L, Rota V, Bolognini N. In Parkinson's disease, dual-tasking reduces gait smoothness during the straight-walking and turning-while-walking phases of the Timed Up and Go test. *BMC Sports Science, Medicine & Rehabilitation*, 17(1), 42, 2025.
- Caronni A, Picardi M, Scarano S, Malloggi C, Tropea P, Gilardone G, Aristidou E, Pintavalle G, Redaelli V, Antoniotti P, Corbo M. Pay attention: You can fall! The Mini-BESTest scale and the turning duration of the TUG test provide valid balance measures in neurological patients: a prospective study with falls as the balance criterion. *Frontiers in Neurology*, 14, 1228302, 2023.
- Çekok K, Kahraman T, Duran G, Dönmez Çolakoğlu B, Yener G, Yerlikaya D, Genç, A. Timed Up and Go Test With a Cognitive Task: Correlations With Neuropsychological Measures in People With Parkinson's Disease. *Cureus*, 2020.
- de-Oliveira L. A, Matos M. V, Fernandes I. G. S, Nascimento D. A, Da Silva-Grigoletto, M. E. Test-Retest Reliability of a Visual-Cognitive Technology (BlazePod™) to Measure Response Time. *Journal of Sports Science and Medicine*, 179–180, 2021.
- Di Carlo S, Bravini E, Vercelli S, Massazza G, Ferriero G. The Mini-BESTest: A review of psychometric properties. *International Journal of Rehabilitation Research*, 39(2), 97–105, 2016.
- Ellis T. D, Colón-Semenza C, DeAngelis T. R, Thomas C. A, Hilaire M-H. S, Earhart G. M, Dibble L. E. Evidence for Early and Regular Physical Therapy and Exercise in Parkinson's Disease. *Seminars in Neurology*, 41(02), 189–205, 2021.
- Fernandes H. S, Tuon T, Rosado M, Lino P. R, Pinho R. A. Efeitos do exercício físico de dupla tarefa sobre a instabilidade postural e parâmetros respiratórios em pacientes com doença de Parkinson. *Revista Brasileira de Fisiologia do exercício*, 20(1), 52–63, 2021.
- Ferrè E. R, Walther L. E, Haggard P. Multisensory Interactions between Vestibular, Visual and Somatosensory Signals. *PLOS ONE*, 10(4), e0124573, 2015.
- Ferreira J, Levy A. *Doença de Parkinson: Manual Prático*. Lidel, Edições Técnicas LDA, Lisboa, 2003.
- Gabriel G. A, Harris L. R, Henriques D. Y. P, Pandi M, Campos J. L. Multisensory visual-vestibular training improves visual heading estimation in younger and older adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14, 816512, 2022.
- García-López H, De Los Angeles Castillo-Pintor M, Castro-Sánchez A. M, Lara-Palomo I. C, Obrero-Gaitán E, Cortés-Pérez I. Efficacy of Dual-Task Training in Patients with Parkinson's Disease: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Movement Disorders Clinical Practice*, 10(9), 1268–1284, 2023.
- Giorgi F, Donati D, Tedeschi R. Cueing Interventions for Gait and Balance in Parkinson's Disease: A Scoping Review of Current Evidence. *Applied Sciences*, 14(24), 11781, 2024.
- Han T, Liu Q, Hu Y, Wang Y, Xue K. Effect of Pro-kin visual feedback balance training on balance function of individuals with early Parkinson's disease: A randomized controlled pilot trial. *African Health Sciences*, 23(2), 582–588, 2023.
- Ilin D, Kalron A. Reproducibility and convergent validity of the blazePod stepping reaction test in older people. *Gait & Posture*, 119, 1–6, 2025.
- Israni P. D, Yadav V, Sasun A. R. Effectiveness of Neurorehabilitation in Improving the Functional Recovery and Quality of Life of Patients With Parkinson's Disease: A Case Report. *Cureus*, 2024.
- Johansson H, Peterson D. S, Sedhed J, Leavy B. Dual-task performance during the Timed Up and Go test in Parkinson's disease—The impact of freezing and cognition. *Gait & Posture*, 115, 14–20, 2025.
- Johansson M. E, Cameron I. G. M, Van Der Kolk N. M, De Vries N. M, Klimars E, Toni I, Bloem B. R, Helmich R. C. Aerobic Exercise Alters Brain Function and Structure in Parkinson's Disease: A Randomized Controlled Trial. *Annals of Neurology*, 91(2), 203–216, 2022.
- Kearney E, Shellikeri S, Martino R, Yunusova Y. Augmented visual feedback-aided interventions for motor rehabilitation in Parkinson's disease: A systematic review. *Disability and Rehabilitation*, 41(9), 995–1011, 2019.
- Kiss R, Brueckner D, Muehlbauer T. Effects of Single Compared to Dual Task Practice on Learning a Dynamic Balance Task in Young Adults. *Frontiers in Psychology*, 9, 311, 2018.
- Leddy A. L, Crowner B. E, Earhart G. M. Utility of the Mini-BESTest, BESTest, and BESTest Sections for Balance Assessments in Individuals With Parkinson Disease. *Journal of Neurologic Physical Therapy*, 35(2), 90–97, 2011.
- Liang H, Kaewmanee T, Aruin A. S. Older adults can rely on an auditory cue to generate anticipatory postural adjustments prior to an external perturbation. *Experimental Brain Research*, 240(4), 1279–1292, 2022.
- Löfgren N, Lenholm E, Conradsson D, Ståhle A, Franzén E. The Mini-BESTest—A clinically reproducible tool for balance evaluations in mild to moderate Parkinson's disease? *BMC Neurology*, 14, 235, 2014.
- Lopes L. K. R, Scianni A. A, Lima L.O, De Carvalho Lana R, Rodrigues-De-Paula F. The Mini-BESTest is an independent predictor of falls in Parkinson Disease. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, 24(5), 433–440, 2020.
- Luque-Casado A, Novo-Ponte S, Sánchez-Molina J. A, Sevilla-Sánchez M, Santos-García D, Fernández-del-Olmo M. Test-Retest Reliability of the Timed Up and Go Test in Subjects with Parkinson's Disease: Implications for Longitudinal Assessments. *Journal of Parkinson's Disease*, 11(4), 2047–2055, 2021.
- Mak M. K. Y, Wong-Yu I. S. K. Exercise for Parkinson's disease. *International Review of Neurobiology*, 147, 1–44, 2019.
- Nonnekes J, Goselink R. J. M, Růžička E, Fasano A, Nutt J. G, Bloem B. R. Neurological disorders of gait, balance and posture: A sign-based approach. *Nature Reviews Neurology*, 14(3), 183–189, 2018.
- Park J.-H. Is Dual-Task Training Clinically Beneficial to Improve Balance and Executive Function in Community-Dwelling Older Adults with a History of Falls? *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(16), 10198, 2022.
- Pelicioni P. H. S, Lord S. R, Menant J. C, Chaplin C, Canning C, Brodie M. A, Sturnieks D. L, Okubo Y. Combined Reactive and Volitional Step Training Improves Balance Recovery and Stepping Reaction Time in People With Parkinson's Disease: A Randomised Controlled Trial. *Neurorehabilitation*

- and Neural Repair, 37(10), 694–704, 2023.
- Qian Y, Fu X, Zhang H, Yang Y, Wang G. Comparative efficacy of 24 exercise types on postural instability in adults with Parkinson's disease: A systematic review and network meta-analysis. *BMC Geriatrics*, 23(1), 2023.
- Radder D. L. M, Lígia Silva De Lima A, Domingos J, Keus S. H. J, Van Nimwegen M, Bloem B. R, De Vries N. M. Physiotherapy in Parkinson's Disease: A Meta-Analysis of Present Treatment Modalities. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, 34(10), 871–880, 2020.
- Radder D. L. M, Sturkenboom I. H, Van Nimwegen M, Keus S. H, Bloem B. R, De Vries N. M. Physical therapy and occupational therapy in Parkinson's disease. *International Journal of Neuroscience*, 127(10), 930–943, 2017.
- Revolutionize Recovery With BlazePod. Disponível em: <https://blazepod.eu/pages/physiotherapy>, consultado em 12-04-2025, 2024.
- Ribeiro de Souza C, Ávila de Oliveira J, Takazono P. S, da Silva Rezende L, Silva-Batista C, Coelho D. B, Teixeira L. A. Perturbation-based balance training leads to improved reactive postural responses in individuals with Parkinson's disease and freezing of gait. *The European Journal of Neuroscience*, 57(12), 2174–2186, 2023.
- Rinalduzzi S, Trompetto C, Marinelli L, Alibardi A, Missori P, Fattapposta F, Pierelli F, Currà A. Balance Dysfunction in Parkinson's Disease. *BioMed Research International*, 2015, 1–10, 2015.
- Rosa M, Pedrosa A, Magalhães B, Nagiller L, Ferreira D. Impacto da utilização de pistas auditivas, visuais e táteis na dupla tarefa na Doença de Parkinson- uma revisão sistemática. *Retos*, 59, 172–186, 2024.
- Tysnes O-B, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*, 124(8), 901–905, 2017.
- Upstream Rehabilitation. *Revolutionizing Rehab: BlazePods*. Disponível em: <https://yourfuture.urpt.com/blog/revolutionizing-rehab-blazepods/>, consultado em 12-04-2025, 2025.
- Vance R. C, Healy D. G, Galvin R, French H. P. Dual Tasking With the Timed "Up & Go" Test Improves Detection of Risk of Falls in People With Parkinson Disease. *Physical Therapy*, 95(1), 95–102, 2015.
- Wallin A, Franzén E, Studsgaard J, Hansen M. B, Johansson S, Brincks J. K. Balance exercise interventions in Parkinson's disease: A systematic mapping review of components, progression, and intensity. *Parkinsonism & Related Disorders*, 133, 107310, 2025.
- Xiao Y, Yang T, Shang H. The Impact of Motor-Cognitive Dual-Task Training on Physical and Cognitive Functions in Parkinson's Disease. *Brain Sciences*, 13(3), 437, 2023.
- Yelshyna D, Gago M. F, Bicho E, Fernandes V, Gago N. F, Costa L, Silva H, Rodrigues M. L, Rocha L, Sousa N. Compensatory postural adjustments in Parkinson's disease assessed via a virtual reality environment. *Behavioural Brain Research*, 296, 384–392, 2016.
- Zafar S, Lui F, Yaddanapudi S. *Parkinson Disease*. StatPearls Publishing, 2023.

Estamos a aproveitar todo o potencial da osteopatia no sistema de saúde? Revisão Narrativa Crítica

Are we harnessing the full potential of osteopathy in the healthcare system? A Critical Narrative Review

Jorge E Esteves^{1, 2, 3} , Alexandre Nunes^{1,4,5*} , Dave Newell³ , Mick Thacker⁶ 

¹Escola Superior de Saúde Atlântica, Barcarena, Portugal.

²Clinical-Based Human Research Department, Foundation COME Collaboration, Pescara, Italy

³Health Sciences University, Bournemouth, UK.

⁴Escola Superior de Saúde Jean Piaget Algarve, Silves, Portugal.

⁵Insight: Centro de Investigação Piaget para o Desenvolvimento Humano e Ecológico, Lisboa, Portugal.

⁶Department of Physiotherapy, Royal College of Surgeons in Ireland, Dublin, Ireland.

*Autor correspondente/Corresponding author: alexandre.nunes@ipiaget.pt

Resumo

Este artigo constitui uma revisão narrativa crítica, de natureza conceptual, que não pretende apresentar evidência empírica direta sobre a eficácia clínica da osteopatia, mas sim sintetizar e integrar contributos teóricos e empíricos emergentes para uma compreensão atualizada do potencial do cuidado osteopático nos sistemas de saúde contemporâneos. A saúde é hoje compreendida como um processo dinâmico, relacional e multiescalar, que transcende a visão biomédica redutora centrada exclusivamente na ausência de doença. Neste contexto, a osteopatia tem vindo a ser progressivamente redefinida como uma prática clínica ecológica e centrada na pessoa, orientada para a promoção da regulação adaptativa, da resiliência e da auto-organização dos sistemas vivos. Com base em avanços da ciência cognitiva — em particular no enativismo, no processamento preditivo e na inferência ativa —, bem como numa compreensão sistémica da inflamação crónica de baixo grau e nos dados emergentes sobre a modulação neuroendócrina-imunitária através do toque, argumenta-se que a osteopatia poderá ser compreendida não apenas como um conjunto de técnicas manuais, mas como um processo incorporado e relacional de co-regulação. Através do toque terapêutico, da aliança terapêutica e da construção partilhada de significado, sugere-se que o cuidado osteopático poderá modular processos interoceptivos, autonómicos, imunitários e afetivos, facilitando potencialmente a recalibração alostática e a atualização de modelos preditivos desadaptativos associados à dor persistente, à inflamação e às perturbações da saúde mental. Propõe-se, como hipótese teórica, que, quando integrada em redes de cuidados multidisciplinares, a osteopatia poderá contribuir para sistemas de saúde mais preventivos, integrativos e centrados na pessoa.

Palavras-chave: Saúde; Cuidados de saúde; Ecologia; Dor; Osteopata; Sistema neuroimunitário; Toque afetivo; Inferência ativa.

Abstract

This article is a critical narrative review, conceptual in nature, that does not aim to present direct empirical evidence on the clinical effectiveness of osteopathy. It rather intends to synthesise and integrate emerging theoretical and empirical contributions toward an updated understanding of the potential of osteopathic care within contemporary healthcare systems. Health is increasingly recognised as a dynamic, relational, and multiscale process that transcends the reductive biomedical view focused solely on the absence of disease. Within this context, osteopathy has been progressively redefined as an ecological and person-centred clinical practice aimed at fostering adaptive regulation, resilience, and self-organisation of living systems. Drawing on advances in cognitive science — particularly enactivism, predictive processing, and active inference — as well as a systemic understanding of chronic low-grade inflammation and emerging evidence on neuroendocrine-immune modulation through touch, it is argued that osteopathy may be understood not merely as a collection of manual techniques but as an embodied and relational process of co-regulation. Through therapeutic touch, the therapeutic alliance, and the shared construction of meaning, osteopathic care may modulate interoceptive, autonomic, immune, and affective processes, potentially facilitating allostatic recalibration and the updating of maladaptive predictive models associated with persistent pain, inflammation, and mental health disorders. It is proposed, as a theoretical hypothesis, that when integrated within multidisciplinary care networks, osteopathy may contribute to more preventive, integrative, and person-centred healthcare systems.

Keywords: Health; Health care; Ecology; Pain; Osteopath; Neuroimmune system; Affective touch; Active inference.

1. INTRODUÇÃO

Heráclito lembra-nos que a única constante na vida é a mudança (Lyman, 2024). Aplicada à saúde, esta ideia convida-nos a ultrapassar definições biomédicas redutoras, que concebem a saúde como mera ausência de doença. Em alternativa, propõe-se uma compreensão mais complexa da saúde enquanto processo dinâmico e multiescalar de regulação adaptativa, no qual sistemas biológicos complexos — incluindo os sistemas nervoso, imunitário, endócrino, bem como o genoma, proteoma e microbioma, interagem constantemente com os ambientes interno e externo.

Neste enquadramento alargado, estes componentes não funcionam como entidades isoladas, mas como parte de um “supersistema de defesa”, uma rede viva, integrada e dinâmica de deteção, resposta e adaptação. Este sistema facilita a alostase, isto é, a estabilidade por meio da mudança, e sustenta a resiliência. No entanto, quando disfuncional ou sobreestimulado, pode originar inflamação crónica de baixo grau (ICBG), hoje reconhecida como um mecanismo central em imunopatologias como a aterosclerose, cancro, depressão major ou neurodegeneração (Lyman, 2024; Marwaha *et al* 2025) e musculoesquelética (Gaspar *et al.*, 2025). A investigação em psiconeuroimunologia tem demonstrado que o sistema neuroendócrino-imunitário (NEI) funciona como uma rede bidirecional, integrando os sistemas nervoso, endócrino e imunitário, mantendo a homeostase e orquestrando respostas ao stress, lesão e doença por meio de hormonas, neurotransmissores e citocinas (Alanazi *et al.*, 2024; Lutke Schipholt *et al.*, 2026).

A medicina convencional, estruturada em diversas disciplinas estanques como a neurologia, a imunologia e a psiquiatria, alcançou avanços significativos. Porém, continua a considerar frequentemente os pacientes como sistemas isolados, quando, na realidade, são interdependentes em múltiplos níveis. Embora a osteopatia tenha historicamente incorporado diversas orientações clínicas e filosóficas, um corpo crescente de investigação contemporânea posiciona-a como parte de uma mudança paradigmática, uma reconfiguração do cuidado osteopático enquanto prática ecológica, relacional e centrada na pessoa. Esta perspetiva integra a fisiologia com a experiência vivida, a estrutura com a função e os sintomas locais com padrões alargados de regulação adaptativa. As formulações iniciais da osteopatia enquanto medicina ecológica remontam a Hoover (1963) e têm sido desenvolvidas recentemente por autores como Esteves *et al.* (2020; 2022), Cerritelli & Esteves (2022), Thomson & MacMillan (2023) e Banton & Vogel (2024). Contributos independentes, nomeadamente os de Fryer (2017), que propôs uma integração das abordagens osteopáticas assente em mecanismos terapêuticos biopsicossociais, e os de Gordon *et al.* (2025), cuja revisão sistemática evidenciou efeitos da terapia manual osteopática sobre indicadores de ansiedade, depressão e stress, vêm reforçar esta orientação. Apesar de esta orientação ainda não estar universalmente adotada na profissão, sinaliza uma transição progressiva de modelos mecanicistas centrados no corpo para abordagens mais integrativas, enativas e sensíveis ao contexto.

Enquanto a biomedicina opera com uma lógica predominantemente intervencionista e reativa, tratando os sistemas do corpo em isolamento e apenas quando surge

1. INTRODUCTION

Heraclitus reminds us that the only constant in life is change (Lyman, 2024). Applied to health, this idea invites us to move beyond reductionist biomedical definitions that conceive health as the mere absence of disease. Alternatively, a more complex understanding of health is proposed as a dynamic and multiscalar process of adaptive regulation, in which complex biological systems, including the nervous, immune, and endocrine systems, as well as the genome, proteome, and microbiome, constantly interact with the internal and external environments.

Within this broader framework, these components do not function as isolated entities but as part of a “defence supersystem” a living, integrated, and dynamic network of detection, response, and adaptation. This system facilitates allostasis, that is, stability through change, and supports the resilience of the individual. However, when dysfunctional or overstimulated, they may give rise to chronic low-grade inflammation (CLGI), which is now recognised as a central mechanism in immunopathologies such as atherosclerosis, cancer, major depression, or neurodegeneration (Lyman, 2024; Marwaha *et al.*, 2025) and musculoskeletal conditions (Gaspar *et al.*, 2025). Research in psychoneuroimmunology has demonstrated that the neuroendocrine-immune (NEI) system functions as a bidirectional network, integrating the nervous, endocrine, and immune systems, maintaining homeostasis, and orchestrating responses to stress, injury, and disease through hormones, neurotransmitters, and cytokines (Alanazi *et al.*, 2024; Lutke Schipholt *et al.*, 2026).

Conventional medicine, structured into several separate disciplines, such as neurology, immunology, and psychiatry, has achieved significant advances. However, it often continues to consider patients as isolated systems, when, in reality, they are interdependent at multiple levels. Although osteopathy has historically incorporated diverse clinical and philosophical orientations, a growing body of contemporary research positions it as part of a paradigmatic shift and reconfiguration of osteopathic care as an ecological, relational, and person-centred practice. This perspective integrates physiology with lived experiences, structure with function, and local symptoms with broader patterns of adaptive regulation. The initial formulations of osteopathy as ecological medicine date back to Hoover (1963) and have recently been developed by authors such as Esteves *et al.* (2020; 2022), Cerritelli and Esteves (2022), Thomson and MacMillan (2023), and Banton and Vogel (2024). Independent contributions, such as those of Fryer (2017), who proposed an integration of osteopathic approaches grounded in biopsychosocial therapeutic mechanisms, and those of Gordon *et al.* (2025), whose systematic review identified the effects of osteopathic manual therapy on indicators of anxiety, depression, and stress, further reinforce this orientation. Although this orientation has not yet been universally adopted within the profession, it signals a progressive transition from body-centred mechanistic models towards more integrative, enactive, and context-sensitive approaches.

While biomedicine operates according to a predominantly interventionist and reactive logic, treating the body's systems in isolation and only when disease emerges, the emerging

doença, a orientação emergente na osteopatia assenta num modelo ecológico e regulatório. Este não visa apenas a intervir, mas também a sustentar a capacidade inata do organismo de se adaptar, ser resiliente e auto-organizar-se. Em vez de atuar sobre o corpo como um objeto passivo, esta abordagem envolve a pessoa num modelo ativo e dinâmico de construção de sentido, enraizado em contextos relacionais e ambientais.

2. ABORDAGEM METODOLÓGICA

O presente artigo constitui uma revisão narrativa crítica da literatura, de natureza conceptual e integrativa. Ao contrário de uma revisão sistemática, esta abordagem não visa a identificação exaustiva ou a avaliação formal da eficácia de intervenções, mas antes a construção de uma síntese teórica orientada para a articulação de contributos provenientes da ciência cognitiva, da psiconeuroimunologia, da filosofia da mente, das neurociências e das ciências clínicas, com relevância para o cuidado osteopático contemporâneo.

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica não sistemática nas bases de dados PubMed, Scopus e Web of Science, com foco predominantemente em publicações entre 2010 e 2025, incluindo pontualmente obras anteriores consideradas seminais. A estratégia de pesquisa, conduzida em língua inglesa, baseou-se em combinações booleanas de termos relacionados com osteopatia e terapia manual — “osteopathy”, “osteopathic manipulative treatment”, “manual therapy” — articulados com descritores associados aos principais eixos conceptuais em análise, nomeadamente “active inference”, “predictive processing”, “enactivism”, “embodied cognition”; “neuroendocrine-immune system”, “psychoneuroimmunology”, “neuroimmunomodulation”; “chronic low-grade inflammation”, “allostasis”, “allostatic load”; “affective touch”, “C-tactile fibres”, “therapeutic touch”, “interoception”; e “person-centred care”, “therapeutic alliance”, “co-regulation”. Adicionalmente, foram realizadas pesquisas complementares com termos como “autonomic nervous system”, “HPA axis”, “cortisol”, “cytokines”, “inflammatory markers”, “chronic pain” e “pain neuroscience”, associados aos descritores relativos à osteopatia e à terapia manual. Foram ainda realizadas pesquisas complementares sobre o sistema nervoso autónomo, o eixo HPA, o cortisol, as citocinas, os marcadores inflamatórios e a dor crónica, em articulação com os termos relativos à osteopatia e à terapia manual.

Foram consideradas publicações teóricas, revisões narrativas e sistemáticas, ensaios clínicos aleatorizados, estudos observacionais e mecanísticos, bem como obras de referência nas áreas da ciência cognitiva e das neurociências. A seleção das fontes foi orientada pela relevância teórica, pela atualidade e pelo contributo potencial para a síntese conceptual proposta, tendo sido complementada pela consulta das listas de referências dos artigos identificados. Reconhece-se que esta abordagem não garante exaustividade bibliográfica e que a seleção das fontes reflete, em certa medida, o enquadramento teórico dos autores.

2.1. A OSTEOPATIA COMO PRÁTICA REGULADORA CENTRADA NA PESSOA

Com base neste paradigma em evolução, a osteopatia deve ser compreendida não apenas como um conjunto de técnicas manuais, mas também como uma forma de raciocínio

orientation in osteopathy is grounded in an ecological and regulatory model. This model does not only aim to intervene but also to support the organism’s innate capacity to adapt, be resilient, and self-organise. Rather than treating the body as a passive object, this approach engages individuals in an active and dynamic model of meaning-making rooted in relational and environmental contexts.

2. METHODOLOGICAL APPROACH

This article is a critical narrative review of the literature and is conceptual and integrative in nature. Unlike a systematic review, this approach does not aim to provide an exhaustive identification or formal evaluation of the effectiveness of interventions but rather to construct a theoretically oriented synthesis that articulates contributions from cognitive science, psychoneuroimmunology, philosophy of mind, neuroscience, and clinical sciences, with relevance to contemporary osteopathic care.

A non-systematic bibliographic search was conducted in the PubMed, Scopus, and Web of Science databases, with a predominant focus on publications between 2010 and 2025, while also including earlier works considered seminal, where relevant. The search strategy, conducted in English, was based on Boolean combinations of terms related to osteopathy and manual therapy — “osteopathy”, “osteopathic manipulative treatment”, “manual therapy” — combined with descriptors associated with the main conceptual axes under analysis, namely “active inference”, “predictive processing”, “enactivism”, “embodied cognition”; “neuroendocrine-immune system”, “psychoneuroimmunology”, “neuroimmunomodulation”; “chronic low-grade inflammation”, “allostasis”, “allostatic load”; “affective touch”, “C-tactile fibres”, “therapeutic touch”, “interoception”; and “person-centred care”, “therapeutic alliance”, “co-regulation”. In addition, complementary searches were conducted using terms such as “autonomic nervous system”, “HPA axis”, “cortisol”, “cytokines”, “inflammatory markers”, “chronic pain”, and “pain neuroscience”, combined with descriptors related to osteopathy and manual therapy. Further complementary searches were also conducted on the autonomic nervous system, HPA axis, cortisol, cytokines, inflammatory markers, and chronic pain, in articulation with terms relating to osteopathy and manual therapy.

Theoretical publications, narrative and systematic reviews, randomised clinical trials, observational and mechanistic studies, and reference works in the areas of cognitive science and neuroscience were considered. The selection of sources was guided by theoretical relevance, recency, and potential contribution to the proposed conceptual synthesis and was complemented by consultation of the reference lists of the identified articles. This approach does not ensure bibliographic exhaustiveness, and the selection of sources reflects, to some extent, the authors’ theoretical framework.

2.1. OSTEOPATHY AS A PERSON-CENTRED REGULATORY PRACTICE

Building on this evolving paradigm, osteopathy should be understood not only as a set of manual techniques but also as a form of clinical reasoning and embodied dialogue, grounded in

clínico e de diálogo incorporado, enraizado no reconhecimento de que cada pessoa é um sistema vivo e adaptativo, inserido em contextos familiares, ecológicos e sociais. Esta visão reposiciona o cuidado osteopático como um processo ativo de co-regulação, no qual a interação terapêutica cria espaço para a reorganização da percepção corporal e para a promoção da resiliência. Uma abordagem verdadeiramente centrada na pessoa vai além do alívio sintomático: procura potenciar a capacidade individual de previsão, adaptação e autorregulação perante as incertezas e os desafios da vida (Esteves *et al.*, 2022).

Na consulta osteopática, as dinâmicas relacionais, como a copresença entre profissional e paciente, o uso terapêutico do toque e a construção colaborativa de significado, tornam-se mecanismos reguladores. O toque, por exemplo, é cada vez mais reconhecido como mediador biológico e relacional da mudança, moldando a consciência interoceptiva, a regulação emocional e a sincronização entre paciente e profissional (McParlin *et al.*, 2022; Gessa *et al.*, 2023). Dados convergentes sugerem que o toque afetivo, mediado por fibras C-tácteis (CT), ativa o córtex insular posterior — um nó central para a interocepção e homeostase emocional — desencadeando a libertação de oxitocina e promovendo a ativação parassimpática, a redução do cortisol e a modulação de citocinas pró-inflamatórias (Uvnäs-Moberg *et al.*, 2020; Fotopoulou *et al.*, 2022; McGlone *et al.*, 2024). Este diálogo incorporado poderá permitir atualizar os modelos preditivos do paciente — expectativas sobre como o corpo e o mundo irão responder — reduzindo o peso desadaptativo atribuído aos sintomas e abrindo novas possibilidades para a saúde e a resiliência (Bohlen *et al.*, 2021).

Assim, hipotetiza-se que a osteopatia tem potencial para atuar não apenas sobre as estruturas músculo-esqueléticas, mas também sobre a ecologia reguladora do paciente. Ao envolver o “supersistema de defesa”, uma rede integrada de processos imunitários, autonómicos, endócrinos e afetivos, o cuidado osteopático pode ser capaz de facilitar a recalibração alostática antes que a disfunção se consolide em patologia estrutural irreversível (Shaw *et al.*, 2022; Cerritelli & Esteves, 2022). Evidência emergente sobre os efeitos da terapia manual na modulação do sistema NEI, incluindo a redução de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6, IL-1 β), o aumento da atividade parassimpática e a libertação de opioides endógenos, sustenta esta perspetiva, embora a evidência seja heterogênea e necessite de confirmação por meio de ensaios clínicos mais rigorosos (Alanazi *et al.*, 2024; Puerto Valencia *et al.*, 2024; Stepnik *et al.*, 2024; Kim, 2025).

2.2. ENATIVISMO E INFERÊNCIA ATIVA: APROFUNDANDO OS FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Os avanços nas neurociências teóricas e na filosofia da mente — nomeadamente no enativismo, processamento preditivo e inferência ativa — oferecem uma estrutura robusta para compreender por que e como o cuidado osteopático pode ter efeitos sistémicos, que constitui uma hipótese plausível que carece de validação empírica.

As abordagens contemporâneas em ciência cognitiva desafiam a ideia de que a mente está confinada “dentro da cabeça”. Em vez disso, a cognição é entendida como emergente de interações dinâmicas e recíprocas entre o cérebro, o corpo

the recognition that each person is a living and adaptive system embedded within familial, ecological, and social contexts. This view repositions osteopathic care as an active process of co-regulation, in which therapeutic interaction creates space for the reorganisation of bodily perception and promotion of resilience. A truly person-centred approach goes beyond symptomatic relief; it seeks to enhance the individual's capacity for prediction, adaptation, and self-regulation in the face of life's uncertainties and challenges (Esteves *et al.*, 2022).

In osteopathic consultations, relational dynamics, such as co-presence between the practitioner and patient, the therapeutic use of touch, and the collaborative construction of meaning, become regulatory mechanisms. Touch, for example, is increasingly recognised as a biological and relational mediator of change, shaping interoceptive awareness, emotional regulation, and synchronisation between patient and practitioner (McParlin *et al.*, 2022; Gessa *et al.*, 2023). Converging evidence suggests that affective touch, mediated by C-tactile (CT) fibres, activates the posterior insular cortex, a central node for interoception and emotional homeostasis, triggering oxytocin release and promoting parasympathetic activation, cortisol reduction, and modulation of pro-inflammatory cytokines (Uvnäs-Moberg *et al.*, 2020; Fotopoulou *et al.*, 2022; McGlone *et al.*, 2024). This embodied dialogue may enable the updating of the patient's predictive models — expectations about how the body and the world will respond — reducing the maladaptive weighting attributed to symptoms and opening new possibilities for health and resilience (Bohlen *et al.*, 2021).

Thus, it is hypothesised that osteopathy has the potential to act not only on musculoskeletal structures but also on the patient's regulatory ecology. By engaging the “defence supersystem” an integrated network of immune, autonomic, endocrine, and affective processes, osteopathic care may facilitate allostatic recalibration before dysfunction becomes consolidated into irreversible structural pathology (Shaw *et al.*, 2022; Cerritelli and Esteves, 2022). Emerging evidence regarding the effects of manual therapy on the modulation of the NEI system, including reductions in pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6, IL-1 β), increased parasympathetic activity, and the release of endogenous opioids, supports this perspective, although the evidence remains heterogeneous and requires confirmation through more rigorous clinical trials (Alanazi *et al.*, 2024; Puerto Valencia *et al.*, 2024; Stepnik *et al.*, 2024; Kim, 2025).

2.2. ENACTIVISM AND ACTIVE INFERENCE: DEEPENING THE THEORETICAL FOUNDATIONS

Advances in theoretical neuroscience and philosophy of mind — namely in enactivism, predictive processing, and active inference — offer a robust framework for understanding why and how osteopathic care may have systemic effects, constituting a plausible hypothesis that requires empirical validation.

Contemporary approaches in cognitive science challenge the idea that the mind is confined “inside the head”. Instead, cognition is understood as emerging from dynamic and reciprocal interactions between the brain, body, and environment, in accordance with theories of embodied and

e o ambiente, em conformidade com as teorias da cognição incorporada e enativa (Gallagher, 2023). Neste sentido, o corpo não é apenas um meio de execução do cérebro, mas um componente constitutivo da cognição, uma interface viva por meio da qual o cérebro compreende e age no mundo. O corpo é, assim, a expressão ecológica da mente.

Dentro deste modelo, o processamento preditivo descreve o cérebro como um sistema gerador que antecipa constantemente os sinais sensoriais e procura minimizar os erros de previsão entre a expectativa e a realidade (Fabry, 2017). Crucialmente, estes modelos não se formam em isolamento: são moldados e atualizados por sinais do corpo e pelas oportunidades do ambiente, tornando o processamento preditivo inerentemente incorporado e situado (Kersten, 2022; Venter, 2021). Assim, a saúde pode ser entendida como a capacidade do sistema cérebro-corpo-ambiente de gerar previsões sintonizadas com os estados fisiológicos internos e com os contextos externos, promovendo a regulação adaptativa e a resiliência (Miller & Clark, 2017).

Sob esta luz, a dor não é apenas um sinal de lesão tecidual, mas pode tornar-se uma previsão protetora mal-adaptativa, ativada perante incerteza ou ameaça persistente (Kiverstein *et al.*, 2022). No âmbito da inferência ativa, a dor crônica pode emergir quando expectativas prévias excessivamente precisas acerca de uma ameaça corporal passam a dominar a evidência sensorial, gerando um ciclo autoperpetuante no qual a atenção seletiva reforça continuamente a “hipótese de dor” (Rossi *et al.*, 2025; Hechler *et al.*, 2016). O cuidado osteopático, ao modular sinais interoceptivos, alterar pistas contextuais (Cook *et al.*, 2023) e reforçar a consciência corporal, tem potencial para atualizar estes modelos generativos e restaurar a confiança entre o corpo e o mundo (Esteves *et al.*, 2022). Esta perspectiva é consistente com modelos de analgesia placébrica baseados no processamento preditivo, nos quais expectativas positivas, com elevada precisão, modulam a experiência de dor através de vias mesocorticolímbicas (Büchel *et al.*, 2014; Milde *et al.*, 2024).

Crucialmente, a inferência ativa reformula a interação terapêutica como um processo cooperativo de atualização de crenças, modulação de precisão e sincronia biocomportamental. A aliança terapêutica deixa de ser um mero fator contextual e torna-se um mecanismo ativo de alinhamento de modelos generativos entre paciente e terapeuta (McParlin *et al.*, 2022; Kim *et al.*, 2022). O toque terapêutico funciona como uma pista ostensiva de alta saliência, proporcionando evidência sensorial corretiva que facilita a revisão de expectativas prévias mal adaptativas (Kim *et al.*, 2022; Arrigoni *et al.*, 2024).

Em contexto pediátrico, a interação entre osteopata, bebê e cuidador pode apoiar processos de co-regulação. Investigação emergente sugere que fatores relacionais, como segurança, sintonia e envolvimento sensorio-motor poderão contribuir para a capacidade regulatória e responsividade social em desenvolvimento (Accardi *et al.*, 2023). Estudos demonstram que o toque dinâmico reduz a ativação fisiológica em recém-nascidos prematuros, possivelmente mediada por aferentes CT, sugerindo que estas vias estão ativas desde as primeiras fases do desenvolvimento (Manzotti *et al.*, 2019; McGlone *et al.*, 2017).

enactive cognition (Gallagher, 2023). In this sense, the body is not merely a means through which the brain executes actions but a constitutive component of cognition, a living interface through which the brain understands and acts in the world. Therefore, the body is an ecological expression of the mind.

Within this model, predictive processing describes the brain as a generative system that constantly anticipates sensory signals and seeks to minimise prediction errors between expectation and reality (Fabry, 2017). Crucially, these models are not formed in isolation; they are shaped and updated by bodily signals and the opportunities afforded by the environment, making predictive processing inherently embodied and situated (Kersten, 2022; Venter, 2021). Thus, health can be understood as the capacity of the brain-body-environment system to generate predictions that are attuned to internal physiological states and external contexts, thereby promoting adaptive regulation and resilience (Miller and Clark, 2017).

In this light, pain is not merely a signal of tissue injury but may become a maladaptive protective prediction activated in the presence of uncertainty or persistent threat (Kiverstein *et al.*, 2022). Within active inference, chronic pain may emerge when overly precise prior expectations concerning bodily threat come to dominate sensory evidence, generating a self-perpetuating cycle in which selective attention continuously reinforces the “pain hypothesis” (Rossi *et al.*, 2025; Hechler *et al.*, 2016). Osteopathic care, by modulating interoceptive signals, altering contextual cues (Cook *et al.*, 2023), and strengthening bodily awareness, has the potential to update these generative models and restore trust between the body and the world (Esteves *et al.*, 2022). This perspective is consistent with the predictive processing models of placebo analgesia, in which positive expectations with high precision modulate the experience of pain through mesocorticolimbic pathways (Büchel *et al.*, 2014; Milde *et al.*, 2024).

Crucially, active inference reformulates therapeutic interaction as a cooperative process of belief updating, precision modulation, and biobehavioural synchrony. The therapeutic alliance ceases to be merely a contextual factor and becomes an active mechanism for aligning generative models between the patient and therapist (McParlin *et al.*, 2022; Kim *et al.*, 2022). Therapeutic touch functions as a highly salient ostensive cue, providing corrective sensory evidence that facilitates the revision of maladaptive prior expectations (Kim *et al.*, 2022; Arrigoni *et al.*, 2024).

In the paediatric context, the interaction between the osteopath, infant, and caregiver may support processes of co-regulation. Emerging research suggests that relational factors such as safety, attunement, and sensorimotor engagement may contribute to the development of regulatory capacity and social responsiveness (Accardi *et al.*, 2023). Studies have shown that dynamic touch reduces physiological activation in preterm newborns, possibly mediated by CT afferents, suggesting that these pathways are active in the earliest stages of development (Manzotti *et al.*, 2019; McGlone *et al.*, 2017).

2.3. TOQUE TERAPÊUTICO E MODULAÇÃO NEI: MECANISMOS BIOLÓGICOS

A investigação recente sobre o toque afetivo e terapêutico revela um conjunto convergente de mecanismos pelos quais a estimulação tátil modula o sistema NEI. Estes dados são particularmente relevantes para compreender os potenciais efeitos sistêmicos do cuidado osteopático, na medida em que o toque constitui um elemento central da consulta osteopática.

O toque afetivo, tipicamente caracterizado por estimulação cutânea lenta e suave, ativa seletivamente as fibras CT, aferentes não mielinizadas que projetam para o córtex insular posterior, um nó central para a interoção e homeostase emocional (Vallbo *et al.*, 2016; Gordon *et al.*, 2013). Esta assinatura sensorial sinaliza segurança e afiliação, permitindo efeitos NEI a jusante.

Ao nível autonómico, o toque lento e suave promove consistentemente a redução da frequência cardíaca, o aumento da atividade parassimpática/vagal e da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), indicando maior flexibilidade autonómica (Fotopoulou *et al.*, 2022; Triscoli *et al.*, 2017). Esta mudança vagal sustenta o reflexo colinérgico anti-inflamatório, ligando o toque à regulação imunitária descendente.

No que respeita ao eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal (HPA), o toque afetivo reduz consistentemente os níveis de cortisol, tanto em repouso como em resposta ao *stress*. Estudos demonstram que o contacto pele a pele diminui os níveis de cortisol em recém-nascidos prematuros, enquanto aumenta os níveis de oxitocina; abraços de parceiros românticos reduzem a resposta do cortisol ao *stress* agudo; e o toque tátil pode “equilibrar” níveis de cortisol desregulados em crianças institucionalizadas (Nikolaeva *et al.*, 2024; Berretz *et al.*, 2022; Pavlyshyn *et al.*, 2022). Estes dados sugerem que o toque afetivo favorece a recalibração homeostática, não apenas a supressão global do cortisol.

A libertação de oxitocina — fortemente estimulada pelo toque mediado por CT — constitui um mediador central na interface NEI. A oxitocina integra segurança social, amortecimento do *stress*, modulação imunitária e alívio da dor, antagonizando a CRF e a noradrenalina e inibindo a ativação do eixo HPA (Uvnäs-Moberg & Petersson, 2022; Handlin *et al.*, 2023). Complementarmente, a terapia manual e osteopática parece aumentar a libertação de opioides endógenos (β -endorfina), correlacionando-se com o alívio da dor e com a modulação imunitária (Kim, 2025).

Ao nível imunitário, a evidência, embora heterogénea, sugere que a terapia manual pode reduzir citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6, IL-1 β) e, potencialmente, aumentar citocinas anti-inflamatórias (IL-10), particularmente em condições de dor crónica e doenças autoimunes (Puerto Valencia *et al.*, 2024; Chen *et al.*, 2025). Estes efeitos imunitários parecem ser mediados tanto por vias autonómicas (reflexo anti-inflamatório colinérgico) como por vias neuroendócrinas (oxitocina, cortisol).

Importa, contudo, reconhecer que a qualidade da evidência nesta área é moderada a baixa, com heterogeneidade substancial nos protocolos de intervenção, nas medidas de resultado e nas populações estudadas (Keter *et al.*, 2025). A maioria dos estudos demonstra efeitos a curto prazo, e os dados longitudinais são limitados. Não há consenso quanto à

2.3. THERAPEUTIC TOUCH AND NEI MODULATION: BIOLOGICAL MECHANISMS

Recent research on affective and therapeutic touch has revealed a convergent set of mechanisms through which tactile stimulation modulates the NEI system. These findings are particularly relevant for understanding the potential systemic effects of osteopathic care, as touch constitutes a central element of osteopathic consultation.

Affective touch, typically characterised by slow and gentle cutaneous stimulation, selectively activates CT fibres, unmyelinated afferents that project to the posterior insular cortex, which is a central node for interoception and emotional homeostasis (Vallbo *et al.*, 2016; Gordon *et al.*, 2013). This sensory signature signals safety and affiliation, thereby enabling downstream NEI effects.

At the autonomic level, slow and gentle touch consistently promotes reductions in heart rate, increased parasympathetic/vagal activity, and increased heart rate variability (HRV), indicating greater autonomic flexibility (Fotopoulou *et al.*, 2022; Triscoli *et al.*, 2017). This vagal shift supports the cholinergic anti-inflammatory reflex, linking touch to the descending immune regulation.

Regarding the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, affective touch consistently reduces cortisol levels, both at rest and in response to stress. Studies show that skin-to-skin contact decreases cortisol levels in preterm newborns while increasing oxytocin levels; hugs from romantic partners reduce the cortisol response to acute stress; and tactile touch may “balance” dysregulated cortisol levels in institutionalised children (Nikolaeva *et al.*, 2024; Berretz *et al.*, 2022; Pavlyshyn *et al.*, 2022). These findings suggest that affective touch favours homeostatic recalibration rather than merely producing global cortisol suppression.

The release of oxytocin, strongly stimulated by CT-mediated touch, constitutes a central mediator at the NEI interface. Oxytocin integrates social safety, stress buffering, immune modulation, and pain relief, antagonising CRF and noradrenaline, and inhibiting the activation of the HPA axis (Uvnäs-Moberg and Petersson, 2022; Handlin *et al.*, 2023). Complementarily, manual and osteopathic therapy appears to increase the release of endogenous opioids (β -endorphin), correlating with pain relief and immune modulation (Kim, 2025).

At the immune level, the evidence, although heterogeneous, suggests that manual therapy may reduce pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6, IL-1 β) and potentially increase anti-inflammatory cytokines (IL-10), particularly in chronic pain conditions and autoimmune diseases (Puerto Valencia *et al.*, 2024; Chen *et al.*, 2025). These immune effects appear to be mediated by autonomic pathways, namely the cholinergic anti-inflammatory reflex and neuroendocrine pathways, namely oxytocin and cortisol.

However, it is important to recognise that the quality of evidence in this area is moderate to low, with substantial heterogeneity in intervention protocols, outcome measures, and study populations (Keter *et al.*, 2025). Most studies have demonstrated short-term effects, and longitudinal data remain limited. There is no consensus regarding the optimal dose-

relação dose-resposta ótima (Roura *et al.*, 2021; Rechberger *et al.*, 2019), e os efeitos neurofisiológicos sobre a dor medidos por testes quantitativos sensoriais permanecem pouco claros (Tabatabaei *et al.*, 2025).

2.4. INFLAMAÇÃO CRÔNICA: UMA PERTURBAÇÃO SISTÊMICA

A inflamação deixou de ser entendida como um fenómeno puramente localizado ou exclusivo do sistema imunitário, sendo agora reconhecida como um processo sistémico de sinalização que integra fatores como o *stress*, a alimentação, o sono, o microbioma, o trauma e o contexto social. A ICBG constitui uma memória incorporada de ameaças não resolvidas, disbiose e sobrecarga alostática, o que aumenta a vulnerabilidade a doenças crónicas (Rohleder, 2012; Speer *et al.*, 2018; Guidi *et al.*, 2020).

Fatores relacionados com o estilo de vida moderno, como dietas altamente processadas, comportamento sedentário, sono insuficiente e *stress* persistente, são agora considerados determinantes-chave na génese da ICBG, promovendo um estado pró-inflamatório que está na base de doenças cardiovasculares, metabólicas e psiquiátricas (Ruiz-Núñez *et al.*, 2013; Mundula *et al.*, 2022), e dor crónica músculo-esquelética (Dunn *et al.*, 2024; Gaspar *et al.*, 2025).

Em vez de considerar a inflamação como uma falha patológica, perspetivas emergentes da biologia sistémica e da ciência cognitiva sugerem que pode representar um sinal de necessidade de reorganização sistémica. No âmbito do cuidado osteopático, estas ideias poderão orientar intervenções centradas na estrutura corporal, na dinâmica dos fluidos, no tónus autonómico e na perceção de segurança. Nestes termos, sugere-se que o cuidado osteopático pode ajudar a mobilizar formas de regulação não lineares, emergentes e distribuídas, que sustentam a capacidade intrínseca do organismo de adaptação e cura (Esteves *et al.*, 2022). Dados de revisões sistemáticas independentes corroboram parcialmente esta hipótese, demonstrando que a terapia manual consegue reduzir biomarcadores inflamatórios sanguíneos em pacientes com dor lombar crónica, embora os efeitos sejam modestos e, por vezes, inconclusivos (Puerto Valencia *et al.*, 2024; Bernal-Utrera *et al.*, 2020).

Esta perspetiva aproxima a osteopatia de movimentos mais amplos na medicina e na saúde pública, como a medicina ecológica e a saúde planetária, que enfatizam que a saúde humana não pode ser dissociada do clima, da biodiversidade, da equidade social e do ambiente construído. A microbiota intestinal ilustra bem esta interconexão: é moldada pela dieta, pelos poluentes e pelo uso de antibióticos e, por sua vez, regula a inflamação, a imunidade e os estados mentais (Lyman, 2024; Mundula *et al.*, 2022) e músculo-esqueléticos (Nitert *et al.*, 2020; Gaspar *et al.*, 2025; Xiao *et al.*, 2025). A osteopatia consegue melhorar a microbiota intestinal em doentes com Parkinson (Mancini *et al.*, 2021), mas são necessários mais ensaios clínicos randomizados com amostras maiores e em diferentes populações.

response relationship (Roura *et al.*, 2021; Rechberger *et al.*, 2019), and the neurophysiological effects on pain measured through quantitative sensory testing remain unclear (Tabatabaei *et al.*, 2025).

2.4. CHRONIC INFLAMMATION: A SYSTEMIC DISTURBANCE

Inflammation is no longer understood as a purely localised phenomenon or as exclusive to the immune system but is now recognised as a systemic signalling process that integrates factors such as stress, diet, sleep, the microbiome, trauma, and social context. The CLGI constitutes an embodied memory of unresolved threats, dysbiosis, and allostatic overload, increasing vulnerability to chronic diseases (Rohleder, 2012; Speer *et al.*, 2018; Guidi *et al.*, 2020).

Factors related to modern lifestyles, such as highly processed diets, sedentary behaviour, insufficient sleep, and persistent stress, are now considered key determinants in the genesis of CLGI, promoting a pro-inflammatory state that underlies cardiovascular, metabolic, and psychiatric diseases (Ruiz-Núñez *et al.*, 2013; Mundula *et al.*, 2022), as well as chronic musculoskeletal pain (Dunn *et al.*, 2024; Gaspar *et al.*, 2025).

Rather than considering inflammation as a pathological failure, emerging perspectives from systems biology and cognitive science suggest that it may represent a signal for the need for systemic reorganisation. Within the context of osteopathic care, these ideas may guide interventions centred on bodily structure, fluid dynamics, autonomic tone, and the perception of safety. In these terms, it is suggested that osteopathic care may help mobilise nonlinear, emergent, and distributed forms of regulation, which support the organism's intrinsic capacity for adaptation and healing (Esteves *et al.*, 2022). Data from independent systematic reviews partially corroborate this hypothesis, demonstrating that manual therapy can reduce blood inflammatory biomarkers in patients with chronic low back pain, although the effects are modest and, at times, inconclusive (Puerto Valencia *et al.*, 2024; Bernal-Utrera *et al.*, 2020).

This perspective brings osteopathy closer to broader movements in medicine and public health, such as ecological medicine and planetary health, which emphasise that human health cannot be dissociated from climate, biodiversity, social equity, and the built environment. The gut microbiota illustrates this interconnection well: it is shaped by diet, pollutants, and antibiotic use and, in turn, regulates inflammation, immunity, and mental states (Lyman, 2024; Mundula *et al.*, 2022), as well as musculoskeletal states (Nitert *et al.*, 2020; Gaspar *et al.*, 2025; Xiao *et al.*, 2025). Osteopathy has been shown to improve the gut microbiota in patients with Parkinson's disease (Mancini *et al.*, 2021); however, further randomised clinical trials with larger samples and different populations are needed.

2.5. BEYOND SYMPTOM CONTROL: MENTAL HEALTH, INFLAMMATION AND EMBODIED CARE

Mental health disorders are increasingly understood as neuroimmune conditions in which inflammation plays a potentially causal or modulatory role, although the robustness of the evidence varies across conditions (Baumeister *et al.*,

2.5. PARA ALÉM DO CONTROLO DE SINTOMAS: SAÚDE MENTAL, INFLAMAÇÃO E CUIDADO INCORPORADO

As perturbações da saúde mental são cada vez mais compreendidas como condições neuroimunes, nas quais a inflamação desempenha um papel potencialmente causal ou modulador, embora a robustez da evidência varie entre as condições (Baumeister *et al.*, 2014; Thylur & Goldsmith, 2022). Níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, TNF- α e IL-1 β , presentes na ICBG, estão consistentemente associados à depressão, à ansiedade e ao declínio cognitivo (Duvivis *et al.*, 2013; Giollabhui *et al.*, 2025; Miller, 2020).

Fatores como *stress* psicossocial, má qualidade de sono e trauma ativam vias imunes que afetam a neurotransmissão, prejudicam a neuroplasticidade e promovem ambientes neurotóxicos, aumentando o risco de perturbações do humor e ansiedade (Zainal & Newman, 2021). A evidência aponta para um ciclo bidirecional: fatores psicossociais ativam respostas imunes, que, por sua vez, influenciam o humor, a cognição e a percepção. Este processo cria uma “paisagem hostil” no cérebro e no corpo, enfraquecendo a capacidade de envolvimento relacional e reduzindo o comportamento exploratório (Corrigan *et al.*, 2023). Uma revisão sistemática e meta-análise recente de Gordon *et al.* (2025) demonstrou que as intervenções osteopáticas apresentam efeitos moderados sobre indicadores psicométricos e psicofisiológicos de ansiedade, depressão e *stress* em adultos, reforçando o papel potencial da osteopatia neste domínio. No entanto, para algumas variáveis, como o sono, existem evidências contraditórias: há evidência robusta, proveniente de estudos longitudinais, da associação entre o sono e a dor crónica músculo-esquelética (Santos *et al.*, 2023), e uma análise de rede recente que indica a necessidade de mais estudos longitudinais para estabelecer associações mais sólidas em pessoas com dor crónica músculo-esquelética (Runge *et al.*, 2025).

Como resposta, a medicina tem explorado intervenções imunomoduladoras. Biológicos anti-TNF, adjuvantes anti-inflamatórios, antidepressivos e psicobióticos dirigidos ao eixo intestino-cérebro têm demonstrado potencial para reduzir sintomas depressivos e o declínio cognitivo (Lyman, 2024). Contudo, estas estratégias tendem a negligenciar as dimensões experienciais, relacionais e ecológicas da neuroinflamação, o que deixa lacunas na recuperação a longo prazo.

A osteopatia, enquanto terapia relacional baseada no corpo, oferece um modelo complementar. Através do toque terapêutico, da co-regulação e do diálogo incorporado, o cuidado osteopático cria ambientes interpessoais seguros que poderão reduzir estados de hipervigilância, cinesiofobia e restaurar a confiança incorporada. Neste enquadramento, a inflamação deixa de ser vista como um erro a suprimir e passa a ser compreendida como informação a ser processada e reintegrada. Esta abordagem está alinhada com modelos de processamento preditivo em saúde mental, que enfatizam a atualização de expectativas maladaptativas por meio de encontros relacionais seguros (Bohlen *et al.*, 2021).

No enquadramento da inferência ativa, o terapeuta pode ser entendido como um modulador de precisão, ajudando o paciente a desviar a atenção de sinais nociceptivos excessivamente precisos para interpretações mais adaptativas

2014; Thylur and Goldsmith, 2022). Elevated levels of pro-inflammatory cytokines, such as IL-6, TNF- α , and IL-1 β , present in CLGI, are consistently associated with depression, anxiety, and cognitive decline (Duvivis *et al.*, 2013; Giollabhui *et al.*, 2025; Miller, 2020).

Factors such as psychosocial stress, poor sleep quality, and trauma activate immune pathways that affect neurotransmission, impair neuroplasticity, and promote neurotoxic environments, increasing the risk of mood and anxiety disorders (Zainal and Newman, 2021). The evidence points to a bidirectional cycle: psychosocial factors activate immune responses, which, in turn, influence mood, cognition, and perception. This process creates a “hostile landscape” in the brain and body, weakening the capacity for relational engagement and reducing exploratory behaviour (Corrigan *et al.*, 2023). A recent systematic review and meta-analysis by Gordon *et al.* (2025) demonstrated that osteopathic interventions have moderate effects on psychometric and psychophysiological indicators of anxiety, depression, and stress in adults, reinforcing the potential role of osteopathy in this domain. However, for some variables, such as sleep, the evidence remains contradictory. There is robust evidence from longitudinal studies on the association between sleep and chronic musculoskeletal pain (Santos *et al.*, 2023), and a recent network analysis indicated the need for more longitudinal studies to establish stronger associations in people with chronic musculoskeletal pain (Runge *et al.*, 2025).

In response, immunomodulatory interventions have been explored. Anti-TNF biologics, anti-inflammatory adjuvants, antidepressants, and psychobiotics targeting the gut-brain axis have shown potential for reducing depressive symptoms and cognitive decline (Lyman, 2024). However, these strategies tend to neglect the experiential, relational, and ecological dimensions of neuroinflammation, leaving gaps in long-term recovery.

Osteopathy, as a relational body-based therapy, offers a complementary model. Through therapeutic touch, co-regulation, and embodied dialogue, osteopathic care creates safe interpersonal environments that may reduce states of hypervigilance and kinesiofobia and restore embodied trust. Within this framework, inflammation is no longer viewed as an error to be suppressed but as information to be processed and reintegrated. This approach is aligned with predictive processing models in mental health, which emphasise updating maladaptive expectations through safe relational encounters (Bohlen *et al.*, 2021).

Within the framework of active inference, the therapist may be understood as a precision modulator, helping the patient to shift attention away from overly precise nociceptive signals towards more adaptive interpretations of bodily experience (Kim *et al.*, 2022). This embodied perspective situates osteopathy within a broader shift in healthcare, which recognises health as emerging from the interaction between biology, lived experience, and social context, affirming, in convergence with planetary health, that human and mental well-being is inseparable from relational safety, bodily states, and systemic regulation.

da experiência corporal (Kim *et al.*, 2022). Esta perspectiva incorporada inscreve a osteopatia numa mudança mais ampla nos cuidados de saúde, que reconhece a saúde como emergente da interação entre biologia, experiência vivida e contexto social, afirmando, de forma convergente com a saúde planetária, que o bem-estar humano e mental é inseparável da segurança relacional, dos estados corporais e da regulação sistêmica.

2.6. IMPLICAÇÕES CLÍNICAS: RUMO A CUIDADOS INTEGRATIVOS E TRANSDISCIPLINARES

Para responder à complexidade das condições de saúde contemporâneas, os sistemas de saúde devem superar os modelos disciplinares estanques e as abordagens redutoras. A osteopatia não se propõe substituir a biomedicina, mas oferece uma via complementar assente em modelos relacionais, centrados na pessoa e incorporados. Em vez de conceitos vitalistas ultrapassados, a osteopatia contemporânea é informada por avanços no pensamento sistémico, na ciência cognitiva e na psiconeuroimunologia, destacando a capacidade adaptativa do corpo e o potencial terapêutico do toque, da segurança e da consciência interoceptiva.

Com base na evidência revista, e reconhecendo que muitas destas proposições requerem validação empírica adicional, sugere-se que uma mentalidade mais ecológica e integrativa entre os profissionais de saúde poderá incorporar intervenções nos níveis biológico, relacional e sistémico:

- Estratégias anti-inflamatórias: Evidência proveniente da medicina do estilo de vida demonstra que a nutrição adequada, o sono reparador e a prática de movimento diversificada reduzem a inflamação de baixo grau, a carga alóstática e melhoram os resultados em doenças crónicas (Lin *et al.*, 2024). Dados sobre a modulação de citocinas por meio de terapia manual complementam esta abordagem (Puerto Valencia *et al.*, 2024).
- Intervenções relacionais: A aliança terapêutica, a presença clínica atenta e o toque seguro são fatores bem estabelecidos na melhoria dos resultados clínicos em várias disciplinas, atuando como processos reguladores em si mesmos (Accurso *et al.*, 2015). A investigação sobre o toque afetivo demonstra que o toque mediado por CT estimula a libertação de oxitocina, reduz o cortisol e promove a ativação vagal, constituindo mecanismos biológicos concretos por meio dos quais as intervenções relacionais exercem efeitos sistémicos (Uvnäs-Moberg *et al.*, 2020; McGlone *et al.*, 2024).
- Promoção da resiliência: Apoiar a autoeficácia do paciente, proporcionar educação significativa e reconectar a pessoa a ambientes sociais e ecológicos saudáveis promovem a resiliência e a recuperação sustentada (Berger & Heusser, 2017; Skrautvol & Nåden, 2016). O enquadramento da inferência ativa sugere que o reforço da agência do paciente altera as expectativas prévias sobre controlabilidade, melhorando os resultados terapêuticos (Strube *et al.*, 2023; Habermann & Büchel, 2025).

2.6. CLINICAL IMPLICATIONS: TOWARDS INTEGRATIVE AND TRANSDISCIPLINARY CARE

To respond to the complexity of contemporary health conditions, healthcare systems must move beyond siloed, disciplinary models and reductive approaches. Osteopathy does not seek to replace biomedicine, but offers a complementary pathway grounded in relational, person-centred and embodied models. Rather than outdated vitalistic concepts, contemporary osteopathy is informed by advances in systems thinking, cognitive science, and psychoneuroimmunology, highlighting the body's adaptive capacity and the therapeutic potential of touch, safety, and interoceptive awareness.

Based on the evidence reviewed and recognising that many of these propositions require further empirical validation, it is suggested that a more ecological and integrative mindset among healthcare professionals may incorporate interventions at the biological, relational, and systemic levels:

- Anti-inflammatory strategies: Evidence from lifestyle medicine demonstrates that adequate nutrition, restorative sleep, and diverse movement practices reduce low-grade inflammation and allostatic load and improve outcomes in chronic disease (Lin *et al.*, 2024). Data on cytokine modulation through manual therapy complement this approach (Puerto Valencia *et al.*, 2024).
- Relational interventions: The therapeutic alliance, attentive clinical presence, and safe touch are well-established factors for improving clinical outcomes across several disciplines, acting as regulatory processes (Accurso *et al.*, 2015). Research on affective touch has demonstrated that CT-mediated touch stimulates oxytocin release, reduces cortisol, and promotes vagal activation, constituting concrete biological mechanisms through which relational interventions exert systemic effects (Uvnäs-Moberg *et al.*, 2020; McGlone *et al.*, 2024).
- Promotion of resilience: Supporting patient self-efficacy, providing meaningful education, and reconnecting the person with healthy social and ecological environments promote resilience and sustained recovery (Berger and Heusser, 2017; Skrautvol and Nåden, 2016). The active inference framework suggests that strengthening patient agency alters prior expectations regarding controllability and improves therapeutic outcomes (Strube *et al.*, 2023; Habermann and Büchel, 2025).

When integrated within a multidisciplinary network, osteopathy may act as a translational bridge between systemic complexity and clinical care, transforming ecological ideas into therapeutic presence. Thus, osteopathy is not only a manual therapy but also a contemporary articulation that contributes to relational, ecological, and truly person-centred medicine.

3. LIMITATIONS

The present work has several limitations that should be explicitly acknowledged. First, it is a conceptual narrative review, not a systematic review; therefore, the selection of sources did not follow exhaustive inclusion and exclusion criteria and may

Quando integrada numa rede multidisciplinar, sugere-se que a osteopatia poderá atuar como ponte tradutora entre a complexidade sistêmica e o cuidado clínico, transformando ideias ecológicas em presença terapêutica. Assim, a osteopatia não é apenas uma terapia manual, mas também uma articulação contemporânea que contribui para uma medicina relacional, ecológica e verdadeiramente centrada na pessoa.

3. LIMITAÇÕES

O presente trabalho apresenta diversas limitações que devem ser explicitamente reconhecidas. Em primeiro lugar, trata-se de uma revisão narrativa de natureza conceptual, não de uma revisão sistemática, pelo que a seleção das fontes não obedece a critérios exaustivos de inclusão e exclusão, podendo refletir enviesamentos na seleção da literatura.

Em segundo lugar, reconhece-se uma concentração de referências associadas a um núcleo autoral específico, nomeadamente autores ligados à osteopatia enativa e à inferência ativa. Embora estas referências sejam centrais para o enquadramento teórico proposto, procurou-se, na presente revisão, diversificar a base bibliográfica, incluindo revisões sistemáticas independentes e evidência empírica de áreas adjacentes, como a psiconeuroimunologia e a investigação sobre toque afetivo. Ainda assim, a predominância de fontes de um mesmo grupo constitui uma limitação que o leitor deve ter em conta.

Em terceiro lugar, muitas das proposições apresentadas ainda permanecem no plano da hipótese teórica. A evidência empírica direta sobre os efeitos clínicos da osteopatia na modulação NEI continua a ser limitada e heterogénea, e também é condicionada por fragilidades metodológicas frequentes nos ensaios clínicos randomizados, nomeadamente amostras de pequena dimensão, dificuldades de cegamento e considerável variabilidade entre os protocolos de intervenção. Acresce que, até ao momento, não há consenso quanto à relação dose-resposta ideal das intervenções osteopáticas para os desfechos NEI.

Em quarto lugar, a generalização das proposições apresentadas a contextos institucionais e culturais específicos é limitada. Os modelos teóricos aqui sintetizados requerem validação em ensaios clínicos multicêntricos, com protocolos padronizados e biomarcadores validados, antes de poderem informar recomendações clínicas ou políticas de saúde.

Finalmente, a dependência de um enquadramento teórico específico (enativismo, inferência ativa) pode limitar o diálogo com outras perspetivas teóricas relevantes para a osteopatia e as terapias manuais. Encoraja-se investigação futura que confronte estas proposições com perspetivas críticas e modelos alternativos.

4. CONCLUSÃO: UMA OPORTUNIDADE POR CONCRETIZAR

Estaremos prontos, do ponto de vista institucional, cultural e epistemológico, para integrar plenamente o contributo da osteopatia nos sistemas de saúde contemporâneos?

Fazê-lo implicaria adotar um modelo de cuidado em que o corpo não é uma máquina e a mente não é um “fantasma desencarnado”, mas sim uma agência viva, sustentada por

reflect biases in the literature selection.

Second, a concentration of references associated with a specific authorial core is acknowledged, namely, authors linked to enactive osteopathy and active inference. Although these references are central to the proposed theoretical framework, in the present review, an effort was made to diversify the bibliographic base by including independent systematic reviews and empirical evidence from adjacent areas, such as psychoneuroimmunology and research on affective touch. Nevertheless, the predominance of sources from the same group constitutes a limitation that should be considered.

Third, many of the propositions presented remain at the level of theoretical hypotheses. Direct empirical evidence regarding the clinical effects of osteopathy on NEI modulation remains limited and heterogeneous and is also constrained by frequent methodological weaknesses in randomised clinical trials, namely, small sample sizes, difficulties with blinding, and considerable variability between intervention protocols. In addition, to date, there is no consensus regarding the ideal dose-response relationship of osteopathic interventions for NEI outcomes.

Fourth, the generalisation of the propositions presented in specific institutional and cultural contexts is limited. The theoretical models synthesised here require validation in multicentre clinical trials with standardised protocols and validated biomarkers before they can inform clinical recommendations or health policy.

Finally, reliance on a specific theoretical framework, namely enactivism and active inference, may limit dialogue with other theoretical perspectives relevant to osteopathy and manual therapies. Future research should confront these propositions with critical perspectives and alternative models.

4. CONCLUSION: AN OPPORTUNITY YET TO BE REALISED

Are we ready, from institutional, cultural, and epistemological perspectives, to fully integrate the contribution of osteopathy into contemporary healthcare systems?

To do so would imply adopting a model of care in which the body is not a machine and the mind is not a “disembodied ghost”, but rather a living agency, sustained by dynamic processes of regulation, meaning-making, and co-regulation.

The synthesis presented in this article suggests that osteopathic care, when informed by advances in cognitive science, psychoneuroimmunology, and research on affective touch, may be associated with a relevant complementary pathway in the management of complex conditions, such as persistent pain, chronic inflammation, and mental health disorders. However, this proposal remains largely theoretical and requires robust empirical validation.

Future research should therefore prioritise: (1) methodologically rigorous, multicentre randomised clinical trials with standardised protocols and validated autonomic, endocrine, and immune biomarkers; (2) longitudinal studies enabling the assessment of sustained effects of osteopathic interventions on neuroendocrine-immune parameters; (3) the integration of multi-omics approaches and neuroimaging techniques to clarify underlying mechanisms; and (4)

processos dinâmicos de regulação, construção de sentido e co-regulação.

A síntese apresentada neste artigo sugere que o cuidado osteopático, quando informado pelos avanços da ciência cognitiva, da psiconeuroimunologia e da investigação sobre o toque afetivo, poderá estar associado a uma via complementar relevante na abordagem de condições complexas, como a dor persistente, a inflamação crónica e as perturbações da saúde mental. Contudo, esta proposta permanece, em larga medida, no plano teórico e carece ainda de validação empírica robusta.

A investigação futura deverá, por isso, privilegiar: (1) ensaios clínicos randomizados, multicêntricos e metodologicamente rigorosos, com protocolos padronizados e biomarcadores validados de natureza autonómica, endócrina e imunitária; (2) estudos longitudinais que permitam avaliar os efeitos sustentados das intervenções osteopáticas sobre parâmetros neuroendócrino-imunitários; (3) a integração de abordagens multiómicas e de técnicas de neuroimagem, com vista à clarificação dos mecanismos subjacentes; e (4) estudos comparativos conduzidos em populações diversificadas, que permitam testar a generalizabilidade e a relevância clínica destes efeitos.

A complexidade não é um problema a ser reduzido, mas uma característica definidora da vida, que deve ser abordada com humildade, precisão e compaixão.

Nesta perspetiva, a osteopatia, quando compreendida na sua profundidade teórica e clínica contemporânea, não rivaliza com a biomedicina, mas tem potencial para complementá-la de forma relevante. Se validada empiricamente, poderá representar uma contribuição para uma medicina mais integrativa, preventiva e centrada na pessoa, alinhada com a visão de saúde como propriedade emergente de sistemas relacionais, incorporados e ecológicos.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

CONTRIBUIÇÕES AUTORAIS

Conceptualização, J.E., D.N., M.T.; metodologia, J.E., D.N., M.T.; redação - preparação do draft original, J.E., D.N., M.T.; redação - revisão e edição, J.E., A.N. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- Accardi C, Cerritelli F, Bovo L, Esteves JE. The osteopath–parent–child triad in osteopathic care in the first 2 years of life: A qualitative study. *Frontiers in Psychology*, **14**, 1253355, 2023. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2023.1253355>
- Accurso EC, Fitzsimmons-Craft EE, Ciao A, Cao L, Crosby RD, Smith TL, Klein MH, Mitchell JE, Crow SJ, Wonderlich SA, Peterson CB. Therapeutic alliance in a randomized clinical trial for bulimia nervosa. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, **83(3)**, 637–642, 2015. <https://doi.org/10.1037/ccp0000021>
- Alanazi MS, Degenhardt B, Kelley-Franklin G, Jacobson E, Fritz S, Kettner N, Kremen V, Lipke L, Reed W. Autonomic nervous system and viscera-related responses to manual therapy: A narrative overview. *International Journal of Osteopathic Medicine*, **54**, 100735, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijosm.2024.100735>
- Arrigoni A, Rossetini G, Palese A, Thacker M, Esteves JE. Exploring the role of therapeutic alliance and biobehavioural synchrony in musculoskeletal care. *Musculoskeletal Science and Practice*, **73**, 103164, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.msksp.2024.103164>
- Banton A, Vogel S. Relational clinical practice: A hermeneutic, enactive, intersubjective model of osteopathy. *International Journal of Osteopathic Medicine*, **51**, 100707, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijosm.2023.100707>
- Baumeister D, Russell A, Pargament CM, Mondelli V. Inflammatory biomarker profiles of mental disorders and their relation to clinical, social and lifestyle factors. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, **49(6)**, 841–849, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00127-014-0887-z>

comparative studies conducted in diverse populations, allowing the generalisability and clinical relevance of these effects to be tested.

Complexity is not a problem to be reduced but a defining feature of life that must be approached with humility, precision and compassion. From this perspective, osteopathy, when understood in its contemporary theoretical and clinical depth, does not rival biomedicine but has the potential to complement it meaningfully. If empirically validated, it may contribute to more integrative, preventive, and person-centred medicine, aligned with the vision of health as an emergent property of relational, embodied, and ecological systems.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualisation, J.E., D.N., M.T.; methodology, J.E., D.N., M.T.; writing – original draft preparation, J.E., D.N., M.T.; writing – review and editing, J.E., A.N. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

- Berger B, Heusser P. How to Become an Agent of One's Own Healing Processes: Self-Management for Chronically Ill Patients in Integrative Health Care. *Complementary Medicine Research*, **24**, 202 – 204, 2017. <https://doi.org/10.1159/000479545>.
- Berretz G, Cebula C, Wortelmann BM, Papadopoulou P, Wolf O, Ocklenburg S, Packheiser J. Romantic partner embraces reduce cortisol release after acute stress induction in women but not in men. *PLoS ONE*, **17(5)**, e0266887, 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266887>
- Bernal-Utrera C, Gonzalez-Gerez JJ, Anarte-Lazo E, Rodriguez-Blanco C. Manual therapy versus therapeutic exercise in non-specific chronic neck pain. *Trials*, **21**, 682, 2020 <https://doi.org/10.1186/s13063-020-04610-w>
- Bohlen L, Shaw D, Cerritelli F, Esteves JE. Osteopathy and mental health: An embodied predictive and interoceptive framework. *Frontiers in Psychology*, **12**, 667705, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.767005>
- Cerritelli F, Esteves JE. An enactive–ecological model to guide patient-centered osteopathic care. *Frontiers in Psychology*, **13**, 893252, 2022. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2022.893252>
- Chen D-T, Zhu H-X, Wan Z-J, Fan T-Y, Gu J-L, Zhan X-H, Sheng X-p. Clinical efficacy of chinese manual therapy for lumbar disc herniation. *Complementary Therapies in Medicine*, **95**, 103285, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2025.103285>
- Cook CE, Bailliard A, Bent JA, Bialosky JE, Carlino E, Colloca L, Esteves JE, Newell D, Palese A, Reed WR, Vilardaga JP, Rossetti G. An international consensus definition for contextual factors: Findings from a nominal group technique. *Frontiers in Psychology*, **14**, 1178560, 2023. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2023.1178560>
- Corrigan M, O'Rourke AM, Moran B, Fletcher JM, Harkin A. Inflammation in the pathogenesis of depression: A disorder of neuroimmune origin. *Neuronal Signaling*, **7(2)**, NS20220054, 2023. <https://doi.org/10.1042/NS20220054>
- Duivis HE, Vogelzangs N, Kupper N, de Jonge P, Penninx BWJH. Differential association of somatic and cognitive symptoms of depression and anxiety with inflammation: Findings from the Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA). *Psychoneuroendocrinology*, **38(9)**, 1573–1585, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.01.002>
- Dunn M, Rushton A, Mistry J, Soundy A, Heneghan N. The biopsychosocial factors associated with development of chronic musculoskeletal pain. Na umbrella review and meta-analysis of observational systematic reviews. *PLoS ONE*, **19(4)**, e0294830, 2024. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294830>
- Esteves JE, Zegarra-Parodi R, van Dun P, Cerritelli F, Vaucher P. Models and theoretical frameworks for osteopathic care: A critical view and call for updates and research. *International Journal of Osteopathic Medicine*, **35**, 1–4, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijosm.2020.01.003>
- Esteves JE, Cerritelli F, Kim J, Friston KJ. Osteopathic care as (en)active inference: A theoretical framework for developing an integrative hypothesis in osteopathy. *Frontiers in Psychology*, **13**, 812926, 2022. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2022.812926>
- Fabry RE. Predictive Processing and Cognitive Development. In T. Metzinger & W. Wiese (Eds.). *Philosophy and Predictive Processing*, **13**, 2017. Frankfurt am Main: MIND Group. <http://dx.doi.org/10.15502/9783958573147>
- Fotopoulou A, von Mohr M, Krahé C. Affective regulation through touch: homeostatic and allostatic mechanisms. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, **43**, 80–87, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2021.08.008>
- Fryer G. Integrating osteopathic approaches based on biopsychosocial therapeutic mechanisms. Part 1: The mechanisms. *International Journal of Osteopathic Medicine*, **25**, 30–41, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijosm.2017.05.002>
- Gallagher S. *Embodied and enactive approaches to cognition*. Cambridge University Press, 2023.
- Gaspar M, Núñez-Carro C, Blanco-Blanco M, Blanco F, Andrés M. Inflammaging contributes to osteoarthritis development and human microbiota variations and vice-versa: A systematic review. *Osteoarthritis and Cartilage*, **33**, 218–230, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2024.11.005>
- Gessa A, Greaves I, Draper-Rodi J. The role of touch in osteopathic clinical encounters – A scoping review. *International Journal of Osteopathic Medicine*, **51**, 100704, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ijosm.2023.100704>.
- Giollabhui NM, Slaney C, Hemani G, Foley ÉM, van der Most PJ, Nolte IM, Snieder H, Smith GD, Khandaker G, Hartman CA. Role of inflammation in depressive and anxiety disorders, affect, and cognition: Genetic and non-genetic findings in the Lifelines cohort study. *Translational Psychiatry*, **15(1)**, 164, 2025. <https://doi.org/10.1038/s41398-025-03372-w>
- Gordon I, Voos AC, Bennett RH, Bolling D, Pelphrey K, Kaiser M. Brain mechanisms for processing affective touch. *Human Brain Mapping*, **34**, 914–922, 2013. <https://doi.org/10.1002/hbm.21480>
- Gordon TC, Hope-Bell J, Draper-Rodi J, MacMillan A, Miller D, Edwards D. Effects of manual osteopathic interventions on psychometric and psychophysiological indicators of anxiety, depression and stress in adults: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, **15**, e095933, 2025. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2024-095933>
- Guidi J, Lucente M, Sonino N, Fava G. Allostatic load and its impact on health: A systematic review. *Psychotherapy and Psychosomatics*, **12**, e81197, 2020. <https://doi.org/10.1159/000510696>
- Habermann M, Büchel C. Controllability changes pain perception by increasing the precision of expectations. *Nature Communications*, **16**, 10113, 2025. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-66038-7>
- Handlin L, Novembre G, Lindholm H, Kämpe R, Paul E, Morrison I. Human endogenous oxytocin and its neural correlates show adaptive responses to social touch based on recent social context. *eLife*, **12**, e81197, 2023. <https://doi.org/10.7554/eLife.81197>
- Hechler T, Endres D, Thorwart A. Why harmless sensations might hurt in individuals with chronic pain. *Frontiers in Psychology*, **7**, 1638, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2016.01638>
- Hoover H. A hopeful road ahead for osteopathy. *Journal of the American Osteopathic Association*, **62**, 608–616, 1963.
- Kersten L. A Model Solution: On the Compatibility of Predictive Processing and Embodied Cognition. *Minds and Machines*, **33**, 113–134, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11023-022-09617-7>.
- Keter D, Bialosky J, Brochetti K, Courtney C, Funabashi M, Karas S, Learman K, Cook C. The mechanisms of manual therapy: A living review of systematic, narrative, and scoping reviews. *PLoS ONE*, **20(3)**, e0319586, 2025. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0319586>
- Kim H. Manual Therapy as Endogenous Opioid Modulator: A Theoretical Framework for Addiction Recovery Research. *Psychiatry International*, **6(4)**, 154, 2025. <https://doi.org/10.3390/psychiatryint6040154>
- Kiverstein J, Kirchhoff MD, Thacker M. An embodied predictive processing theory of pain experience. *Review of Philosophy and Psychology*, **13(5)**, 973–998, 2022. <https://doi.org/10.1007/s13164-022-00616-2>

- Kovanur-Sampath KK, Katare R, Tumilty S. Stress axis and osteopathy: A dual hormone approach. *International Journal of Osteopathic Medicine*, **33**, 24-30, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijosm.2019.05.001>
- Lin J, Liu J, O'Fee A, Pandey C, Benna-Doyle S, Maunder A, Rao V, Alesi S, Ng B, Ee C. The effectiveness and safety of lifestyle medicine and integrative therapies in inflammatory arthritis: an umbrella review using a hierarchical evidence gathering approach. *Frontiers in Medicine*, **11**, 2024. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1357914>.
- Lutke Schipholt IJ, Coppieters MW, Scholten-Peeters G, Hutchinson M, Klyne D. Neuroimmune interactions in musculoskeletal conditions. *Musculoskeletal Science and Practice*, **81**, 103469, 2026. <https://doi.org/10.1016/j.msksp.2025.103469>
- Lyman M. *The immune mind: The new science of health*. Transworld Publishers Ltd, 2024.
- Mancini D, Yao S, Martinez L, Shakil H, Li T. Gut microbiome changes with osteopathic treatment of constipation in Parkinson's Disease: A Pilot Study. *Neurology*, **13(2)**, 19-33, 2021.
- Manzotti A, Cerritelli F, Esteves JE, Lista G, Lombardi E, La Rocca S, Gallace A, McGlone F, Walker SC. Dynamic touch reduces physiological arousal in preterm infants: A role for c-tactile afferents? *Developmental Cognitive Neuroscience*, **39**, 100703, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2019.100703>
- Marwaha, K., Cain, R., Asmis, K., Czaplinski, K., Holland, N., Mayer, D., Chacon, J. Exploring the complex relationship between psychosocial stress and the gut microbiome: implications for inflammation and immune modulation. *Journal of Applied Physiology*, **138**, 518-535, 2025. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00652.2024>
- McGlone F, Cerritelli F, Walker S, Esteves JE. The role of gentle touch in perinatal osteopathic manual therapy. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **72**, 1-9, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.11.009>
- McGlone F, Uvnäs Moberg K, Norholt H, Eggart M, Müller-Oerlinghausen. Touch medicine: bridging the gap between recent insights from touch research and clinical medicine. *Frontiers in Psychiatry*, **15**, 1390673, 2024. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2024.1390673>
- McParlin Z, Cerritelli F, Friston KJ, Esteves JE. Therapeutic alliance as active inference: The role of therapeutic touch and synchrony. *Frontiers in Psychology*, **13**, 783694, 2022. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2022.783694>
- Miller AH. Beyond depression: The expanding role of inflammation in psychiatric disorders. *World Psychiatry*, **19(2)**, 108–109, 2020. <https://doi.org/10.1002/wps.20723>
- Miller M, Clark A. Happily entangled: prediction, emotion, and the embodied mind. *Synthese*, **195**, 2559 – 2575, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11229-017-1399-7>.
- Milde C, Brinskelle LS, Glombiewski JA. Does Active Inference Provide a Comprehensive Theory of Placebo Analgesia? *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*, **9**, 10-20, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2023.08.007>
- Mundula T, Russo E, Curini L, Giudici F, Piccioni A, Franceschi F, Amedei A. Chronic systemic low-grade inflammation and modern lifestyle: The dark role of gut microbiota. *Current Medicinal Chemistry*, **29(24)**, 4361–4375, 2022. <https://doi.org/10.2174/092986732966220430131018>
- Nikolaeva EI, Dydenkova EA, Mayorova LA, Portnova GV. The impact of daily affective touch on cortisol levels in institutionalized & fostered children. *Physiology and Behavior*, **277**, 114479, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2024.114479>
- Nitert M, Mousa A, Barrett H, Naderpoor N, de Courten B. Altered Gut Microbiota Composition Is Associated With Back Pain in Overweight and Obese Individual. *Frontiers in Endocrinology*, **11**, 605, 2020. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00605>
- Pala ÖO, Çltaker S, Güney E, Sepici A, Güveli G, Arslan B, Gürü M. Effectiveness of osteopathic manipulative applications on HPA axis in youth with major depressive disorder. *Journal of Osteopathic Medicine*, **124(6)**, 267-275, 2024. <https://doi.org/10.1515/jom-2023-0056>
- Pavlyshyn H, Sarapuk I, Horishna I, Slyva V, Skubenko N. Skin-to-skin contact to support preterm infants and reduce NICU-related stress. *International Journal of Developmental Neuroscience*, **82(7)**, 639-645, 2022. <https://doi.org/10.1002/jdn.10216>
- Puerto Valencia LM, He Y, Wippert P-M. The changes of blood-based inflammatory biomarkers after non-pharmacologic interventions for chronic low back pain. *BMC Musculoskeletal Disorders*, **25(1)**, 209, 2024. <https://doi.org/10.1186/s12891-024-07289-1>
- Rechberger V, Biberschick M, Porthun J. Effectiveness of an osteopathic treatment on the autonomic nervous system: A systematic review. *European Journal of Medical Research*, **25**, 209, 2019. <https://doi.org/10.1186/s40001-019-0394-5>
- Rohleder N. Stress system regulation of chronic low-grade inflammation. *Advances in Neuroimmune Biology*, **3**, 265–276, 2012. <https://doi.org/10.3233/NIB-012904>
- Rossi L, Cerritelli F, Thacker M, Esteves JE. The role of sensory attenuation in symptomatic and healthy individuals: a scoping review. *Frontiers in Neuroscience*, **19**, 1590127, 2025. <https://doi.org/10.3389/fnins.2025.1590127>
- Runge N, Goossens Z, De Beats L, Labie C, Roland A, Verschueren S, Van Assche D, Malfliet A, De Pourcq V, Blanken T, Fried E, Mairesse O. Understanding the complex relationship between sleep and pain symptoms in people with chronic musculoskeletal pain – A pre-registered network analysis. *The Journal of Pain*, **36**, 105555, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2025.105555>
- Roura S, Álvarez G, Solà I, Cerritelli F. Do manual therapies have a specific autonomic effect? An overview of systematic reviews. *PLoS ONE*, **16(12)**, e0260642, 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260642>
- Ruiz-Núñez B, Pruijboom L, Dijck-Brouwer D, Muskiet F. Lifestyle and nutritional imbalances associated with Western diseases. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **24(7)**, 1183–1201, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.02.009>
- Santos M, Gabani F, Andrade S, Bizzozero-Peroni B, Martínez-Vizcaíno V, González A, Mesas A. The bidirectional association between chronic musculoskeletal pain and sleep-related problems: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology*, **62**, 2951-2962, 2023. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kead190>
- Shaw R, Abbey H, Casals-Gutiérrez S, Maretic S. Reconceptualizing the therapeutic alliance in osteopathic practice: Integrating insights from phenomenology, psychology and enactive inference. *International Journal of Osteopathic Medicine*, **46**, 36-44, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijosm.2022.06.003>.
- Skrautvol K, Näden D. Tolerance Limits, Self-understanding, and Stress Resilience in Integrative Recovery of Inflammatory Bowel Disease. *Holistic Nursing Practice*, **31**, 30 – 41, 2016. <https://doi.org/10.1097/HNP.0000000000000189>.
- Speer K, Upton D, Semple S, Mckune A. Systemic low-grade inflammation in PTSD: A systematic review. *Journal of Inflammation Research*, **11**, 111-121, 2018. <https://doi.org/10.2147/JIR.S155903>
- Stepnik J, Czaprowski D, Kedra A. Effect on manual osteopathic techniques on the autonomic nervous system, respiratory system function and head-c

- ervical-shoulder complex – a systematic review. *Frontiers in Medicine, Family Medicine and Primary Care*, **11**, 1358529, 2024. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1358529>
- Strube A, Horing B, Rose M, Büchel C. Agency affects pain inference through prior shift. *Neuron*, **111(7)**, 1136-1151, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2023.01.002>
- Tabatabaei A, Molaei F, Mangdow M, Sharma N. Efficacy of manual therapy on central sensitization in subjects with chronic low back pain: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Bodywork & Movement Therapies*, **44**, 672-685, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.jbmt.2025.06.020>
- Thomson O, MacMillan A. What's wrong with osteopathy? *International Journal of Osteopathic Medicine*, **48**, 100659, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ijosm.2023.100659>
- Thylur DS, Goldsmith DR. Brick by brick: Building a transdiagnostic understanding of inflammation in psychiatry. *Harvard Review of Psychiatry*, **30(1)**, 40–53, 2022. <https://doi.org/10.1097/HRP.0000000000000326>
- Tricoli C, Croy I, Steudte-Schmiedgen S, et al. Heart rate variability is enhanced by long-lasting pleasant touch at CT-optimized velocity. *Biological Psychology*, **128**, 71-81, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2017.07.007>
- Uvnäs-Moberg KU, Handlin L, Petersson M. Neuroendocrine mechanisms involved in the physiological effects caused by skin-to-skin contact. *Infant Behavior and Development*, **61**, 101482, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.infbeh.2020.101482>
- Uvnäs-Moberg K, Petersson M. Physiological effects induced by stimulation of cutaneous sensory nerves, with a focus on oxytocin. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, **43**, 159-166, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2021.10.001>
- Vallbo ÅB, Olausson H, Wessberg J. Pleasant touch. The Curated Reference Collection in Neuroscience and Biobehavioral Psychology, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809324-5.02922-9>
- Venter E. Toward an Embodied, Embedded Predictive Processing Account. *Frontiers in Psychology*, **12**, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.543076>
- Xiao J, Zhou X, Xia T, Zhang W, Xing X, Zhang Y, Xiong L. Exploring role of gut microbiota in intervertebral disc degeneration: insights from bidirectional Mendelian randomization analysis. *European Spine Journal*, **34**, 2092-2105, 2025.
- Zainal N, Newman M. Inflammation mediates depression and generalized anxiety symptoms predicting executive function impairment after 18 years. *Journal of Affective Disorders*, **296**, 465-475, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2021.08.077>

Normas de Publicação da RevSALUS

A *RevSALUS*, revista científica da Rede Académica das Ciências da Saúde da Lusofonia (RACS), é uma publicação científica internacional em língua portuguesa de acesso aberto, com a finalidade de promover a divulgação da produção científica, fortalecendo a cooperação internacional no contexto da investigação, ensino, desenvolvimento e inovação, em todas as áreas da saúde ou a elas aplicadas.

Publica artigos em português na sua edição em papel e em português e inglês na sua edição online, sobre todas as áreas das ciências da saúde. Inclui regularmente artigos originais sobre investigação clínica ou básica, revisões temáticas, artigos breves (*short communications*), casos clínicos, relatos de experiência, imagens em ciências da saúde, editoriais, artigos de opinião científica, recensões críticas, cartas ao editor e destaques biográfico da equipa editorial ou autores. Para consultar as edições online deverá aceder através do link <https://revsalus.com/>.

Todos os artigos são avaliados antes de serem aceites para publicação por especialistas designados pelos editores (*peer review*). A submissão de um artigo à *RevSALUS* implica que este nunca tenha sido publicado e que não esteja a ser avaliado para publicação noutra revista.

Os trabalhos submetidos para publicação são propriedade da *RevSALUS* e a sua reprodução total ou parcial deverá ser convenientemente autorizada. Todos os autores deverão enviar a declaração de originalidade, conferindo esses direitos à *RevSALUS*, na altura em que os artigos são aceites para publicação.

Envio de manuscritos

Os manuscritos são enviados para a *RevSALUS* através do link da plataforma: <https://revsalus.com/>.

Responsabilidades éticas

Os autores dos artigos aceitam a responsabilidade definida pelo Comité Internacional dos Editores das Revistas Médicas (consultar www.icmje.org). Os trabalhos submetidos para publicação na *RevSALUS* devem respeitar as recomendações internacionais sobre investigação clínica (Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial, revista recentemente) e com animais de laboratório (Sociedade Americana de Fisiologia). Os estudos aleatorizados deverão seguir as normas CONSORT.

Informação sobre autorizações

A publicação de dados dos participantes não deve identificar os mesmos, devendo os autores apresentar o consentimento escrito por parte do doente que autorize a sua publicação, reprodução e divulgação em papel e online na *RevSALUS*. Do mesmo modo os autores são responsáveis por obter as respetivas autorizações para reproduzir na *RevSALUS* todo o material (texto, tabelas ou figuras) previamente publicado. Estas autorizações devem ser solicitadas ao autor e à editora que publicou o referido material.

Conflito de interesses

Cada um dos autores deverá pronunciar-se quanto à existência ou não de conflito de interesses. O rigor e a exatidão dos conteúdos, assim como as opiniões expressas são da exclusiva responsabilidade dos autores. Em particular os autores estão obrigados a divulgar todas as relações financeiras e pessoais que possam estar relacionadas com o trabalho. Esta informação não influenciará a decisão editorial, mas antes da submissão do manuscrito, os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido. Se os autores têm dúvidas sobre o que constitui um relevante interesse financeiro ou pessoal, devem contactar o editor.

Proteção de dados

Os dados de carácter pessoal que se solicitam vão ser tratados para processamento automatizado da *RevSALUS* com fins de gerir a publicação do seu artigo na *RevSALUS*. Salvo indique o contrário ao enviar o artigo, fica expressamente autorizado que os dados referentes ao seu nome, apelidos, local de trabalho e correio eletrónico sejam publicados na *RevSALUS*, bem como no portal da *RevSALUS*, com o intuito de dar a conhecer a autoria do artigo e de possibilitar que os leitores possam comunicar com os autores.

Artigos originais

Apresentação do documento:

- O manuscrito deve seguir a seguinte ordem:
 - i) resumo estruturado em português e palavras-chave;
 - ii) resumo estruturado em inglês e *keywords*;
 - iii) corpo de texto;
 - iv) referências bibliográficas;
 - v) legendas das figuras e tabelas
 - vi) tabelas.
- Espaçamento de 1,5, margens de 2,5 cm e páginas e linhas numeradas.
- Não deverão exceder 5.000 palavras, excluindo as tabelas.

Primeira página

Título completo em português e em inglês (até 150 caracteres).

Nome e apelido dos autores pela ordem seguinte: nome próprio seguido do apelido.

Afiliação (Departamento/serviço, instituição, cidade, país).

Endereço completo do autor correspondente.

Resumo estruturado

O resumo, com um máximo de 250 palavras, deve estar dividido em cinco secções, sempre que aplicável: i) Introdução; ii) Objetivos; iii) Material e Métodos; iv) Resultados e v) Conclusões.

Não inclui referências bibliográficas nem figuras ou tabelas.

Inclui cinco palavras-chave em português e em inglês. Deverão ser seleccionadas a partir da *Medical Subject Headings* (MeSH) da *National Library of Medicine*, disponível em: www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html.

Texto

Deverá conter as seguintes partes devidamente assinaladas: i) Introdução; ii) Material e Métodos; iii) Resultados; iv) Discussão e v) Conclusões. Poderá utilizar subdivisões adequadamente para organizar cada uma das secções.

Os agradecimentos situam-se no final do texto.

Referências bibliográficas

As referências bibliográficas deverão ser citadas no seguinte modelo (Dinis-Oliveira *et al.*, 2018). As referências bibliográficas não incluem dados não publicados, podendo ser incorporada a informação ao longo do texto, entre parêntesis.

As referências devem seguir o modelo disponibilizado pela *RevSALUS* em [Instruções para autores](#), que cumprem os seguintes requisitos:

Citação de revista científica: Listar todos os autores e seguir o formato: Dinis-Oliveira RJ, Carvalho F, Duarte JA, Remião F, Marques A, Santos A, Magalhães T. Collection of biological samples in forensic toxicology. *Toxicol Mech Methods* 20:363-414, 2010.

Citação de livro: Editores, título do livro, editora, cidade, ano. Exemplo: Dinis-Oliveira RJ, Carvalho F, Bastos ML. Toxicologia Forense. Lidel, Edições Técnicas LDA, Lisboa, 2015.

Capítulo em livro: Autores, título do capítulo, *In:* título do livro, editores (ed), editora, páginas, ano. Exemplo: Magalhães T, Ribeiro C, Jardim P, Peixoto C, Dinis-Oliveira RJ, Abreu C, Pinheiro MF, Guerra CC. PARTE III. Da investigação inicial ao diagnóstico de abuso. *In:* Abuso de crianças e jovens - da suspeita ao diagnóstico, Magalhães T (ed). Lidel, Edições Técnicas LDA, Lisboa, 147-172:2010.

Endereço eletrônico: Sítio na web. Exemplo: Dinis-Oliveira RJ. Toxicologia Forense. Disponível em: http://apcforenses.org/?page_id=11, consultado em 25-07-2018, 2017.

Figuras

Devem ser submetidas com a máxima qualidade possível em ficheiro *.ppt (*power-point*). No manuscrito, são aceitáveis ainda os seguintes formatos: BMP, EPS, JPG, PDF e TIF, com 300 dpis de resolução, pelo menos 1200 pixéis de largura e altura proporcional. As figuras devem ser numeradas na ordem em que são citadas no texto e assinaladas em numeração árabe e com identificação, figura/tabela. Tabelas e figuras devem ter numeração árabe e legenda. Cada figura e tabela incluídas no trabalho têm de ser referidas no texto, da forma que passamos a exemplificar: Estes são alguns exemplos de como uma resposta imunitária anormal pode estar na origem dos sintomas da doença de Behçet (Fig. 4).

Tabelas

São identificadas com numeração árabe de acordo com a ordem de entrada no texto. Cada tabela será escrita com espaçamento simples e colocadas no fim do documento *word*, com o título colocado na parte superior e na parte inferior são referidas as abreviaturas por ordem alfabética.

Editoriais

Os editoriais serão apenas submetidos por convite do Conselho Editorial. Serão comentários sobre tópicos atuais. Não devem exceder as 1.200 palavras nem conter tabelas/figuras e terão um máximo de 5 referências bibliográficas. Não necessitam de resumo.

Artigos de revisão

Destinam-se a abordar de forma aprofundada, o estado atual do conhecimento referente a temas de importância. Estes artigos serão elaborados a convite da equipa editorial, contudo, será possível a submissão, por autores não convidados (com ampla experiência no tema) de propostas de artigo de revisão que, julgados relevantes e aprovados pelo Conselho Editorial, poderão ser desenvolvidos e submetidos às normas de publicação. Número máximo de palavras do resumo: 250; número máximo de palavras do corpo de texto do artigo sem contar com o resumo e tabelas: 5.000; número máximo de referências bibliográficas: 200. Deverão ter uma secção dedicada aos materiais e métodos.

Artigos breves (*short communications*)

Artigos com conteúdos originais significativos e justificativos de rápida disseminação, contendo no máximo 2 500 palavras, incluindo todas as partes, excetuando as referências. Admite-se a inclusão de 5 tabelas ou figuras e no máximo 15 referências. Esta categoria de artigos é particularmente adequada para a divulgação de, por exemplo: descoberta ou desenvolvimento de novos materiais e terapêuticas, experiências de ponta e elucidação de mecanismos, por exemplo os fisiopatológicos.

Cartas ao editor

Devem ser enviadas sob esta rubrica e referem-se a artigos publicados na *RevSALUS*. Serão somente consideradas as cartas recebidas no prazo de oito semanas após a publicação do artigo em questão. Não pode exceder as 800 palavras. Podem incluir um número máximo de duas figuras. As tabelas estão excluídas. Deve seguir a seguinte estrutura geral: identificar o artigo visado (torna-se a referência 1); motivo da carta; fornecer evidência (a partir da literatura ou experiência pessoal); fornecer

uma súmula; citar referências. A(s) resposta(s) do(s) autor(es) devem observar as mesmas características.

Casos clínicos

O texto explicativo não pode exceder 3.000 palavras e contém informação de maior relevância. Contém um número máximo de 4 figuras e pode ser enviado material suplementar, como por exemplo vídeos.

Relatos de experiência

Artigos que descrevem uma determinada experiência que possa contribuir com a discussão, a troca e a proposição de ideias para a melhoria do cuidado na saúde. Por esse motivo, o relato deve ser feito de modo contextualizado, com objetividade e contributo teórico. Contém no máximo 2.500 palavras, com no máximo 30 referências, e devem ser estruturados da seguinte forma: título, resumo (até 200 palavras), introdução, descrição do caso, metodologia, discussão com revisão da literatura, conclusão e bibliografia.

Imagens em ciências da saúde

O texto explicativo não pode exceder as 250 palavras e contém informação de maior relevância, sem referências bibliográficas. Todos os símbolos que possam constar nas imagens serão adequadamente explicados no texto. Contém um número máximo de quatro figuras. A imagem em ciências da saúde é um contributo importante da aprendizagem e da prática clínica ou outra. Poderão ser aceites imagens clínicas, de imagiologia, histopatologia, cirurgia, etc. Podem ser enviadas até duas imagens por caso. Não pode ter mais do que três autores e cinco referências bibliográficas. Não precisa de resumo. Só são aceites fotografias originais, de alta qualidade, que não tenham sido submetidas a prévia publicação.

Guidelines / Normas de orientação

As sociedades científicas, os colégios das especialidades, as entidades oficiais e/ou associações podem publicar na *RevSALUS* recomendações de prática clínica, laboratorial ou outra.



Rede Académica das Ciências da Saúde da Lusofonia



<http://racslusofonia.org>

RACS, Edifício INOPOL – Campus da Escola Superior Agrária,
Quinta da Bencanta, Instituto Politécnico de Coimbra, 3045-601
Coimbra, Portugal

(+351) 239 802 350 | (+351) 915 677 972
geral@racslusofonia.org





Rede Académica
das Ciências da Saúde
da Lusofonia