

Biomed Biopharm Res
21 (1,2) 1 -162 (2024)

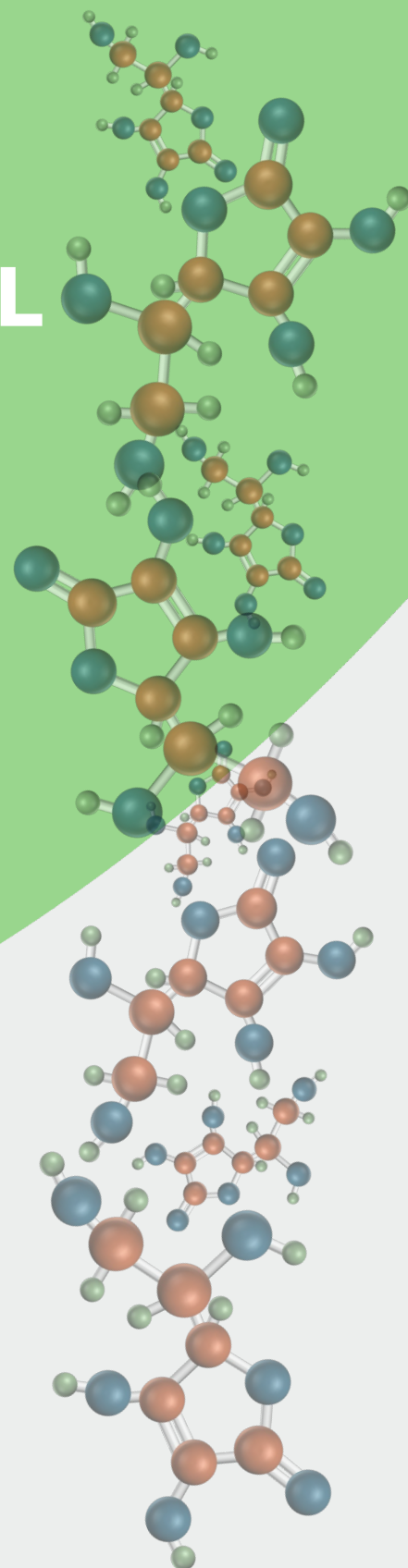
online
ISSN 2182-2379

Vol. 21, Nos. 1& 2

BIOMEDICAL AND BIOPHARMACEUTICAL RESEARCH

INVESTIGAÇÃO
BIOMÉDICA E BIOFARMACÊUTICA

Editor | Luís Monteiro Rodrigues



Sponsored by / Com o patrocínio da



CPLP
Comunidade dos Países
de Língua Portuguesa



Luís Monteiro Rodrigues
Editor-in-Chief  

2024 - This volume in brief notes

This volume brings together all the publications from the year 2024, including Original Articles, Review Articles and Case Studies, as well as a number dedicated to the Books of Abstracts of various scientific events of different dimensions in Portugal and Brazil.

The Original Articles section begins with an article from the field of chemical synthesis applied to natural products, one of the main themes of our publication - the asymmetric Adler-Becker reaction, proposing new research directions in this reaction (*Biomed Biopharm Res*, 2024; 21(1), 4-14. doi: 10.19277/bbr.21.1.334).

The next theme, centred on the search for early indicators of vascular alteration in young tobacco smokers with no clinical complaints or manifestations, warns of the possibility of very early vascular risk, even without clinical expression, associated with regular consumption (for more than a year) of tobacco smoke. A particularly relevant topic in terms of community health to follow (*Biomed Biopharm Res*, 2024; 21(1), 15-26. doi: 10.19277/bbr.21.1.333).

In this section we also find another highly topical issue centred on the exposome and skin health - this time evaluating the impact of a combination of vitamins intended to be incorporated into a cosmetic formulation to protect the skin barrier (*Biomed Biopharm Res*, 2024; 21(1), 27-42. doi: 10.19277/bbr.21.1.335).

This is followed by another article centred on the properties of a honey of remote origin. Honey is one of the best-known natural products used in traditional medicine, but the scientific evidence for many of its properties is still insufficient. This article demonstrates for the first time the impact of honey on strengthening the balance of epidermal water, which likely explains part of its healing properties (*Biomed Biopharm Res*, 2024; 21(1), 43-55. doi: 10.19277/bbr.21.1.346).

2024 - Este volume em breves notas

O presente volume reúne o conjunto de publicações do ano de 2024 incluindo Artigos Originais, Artigos de Revisão e, Estudos de Caso, e um numero dedicado aos Livros de Resumos de diversos acontecimentos científicos de diferente dimensão em Portugal e no Brasil.

A Secção de Artigos Originais começa com um artigo do domínio da síntese química aplicada aos produtos naturais, um dos temas principais da nossa publicação - a Reação Adler-Becker assimétrica, propondo novas direções de investigação nesta reação (*Inv Biomed Biofarmaceutica*, 2024; 21(1), 4-14. doi: 10.19277/bbr.21.1.334).

O tema seguinte, centrado na procura de indicadores precoces de alteração vascular em jovens fumadores de tabaco sem queixas ou manifestações clínicas, alerta para a possibilidade de risco vascular muito precoce mesmo que sem expressão clínica, associado ao consumo regular (por mais de um ano) do fumo de tabaco. Um tema especialmente relevante, em termos de saúde comunitária, a seguir (*Inv Biomed Biofarmaceutica*, 2024; 21(1), 15-26. doi: 10.19277/bbr.21.1.333).

Nesta secção encontramos também um outro tema de grande actualidade centrado no exposoma e na saúde cutânea - desta vez avaliando o impacto de uma associação de vitaminas destinadas a ser incorporadas numa formulação cosmética para protecção da barreira cutânea (*Inv Biomed Biofarmaceutica*, 2024; 21(1), 27-42. doi: 10.19277/bbr.21.1.335).

Segue-se um outro artigo centrado nas propriedades de um mel de origem remota. O mel é um dos produtos naturais mais conhecidos e utilizados em medicina tradicional, mas a evidência científica de muitas das suas propriedades é ainda insuficiente. Este artigo demonstra pela primeira vez o impacto do mel no reforço do balanço da água epidérmica, o que provavelmente explica parte das suas propriedades reparadoras (*Inv Biomed Biofarmaceutica*, 2024; 21(1), 43-55. doi: 10.19277/bbr.21.1.346).

The influence of social networks and especially Instagram® on consumers' daily habits and choices, regardless of age, is the main theme of the article we publish here. It focuses on the influence of this application and digital content creators on the food choices of a group of university students (*Biomed Biopharm Res*, 2024; 21(1), 56-69, doi: 10.19277/bbr.21.1.342).

This section closes with another original article from an international collaboration that analyses the main determinants that have conditioned access to food during the recent COVID-19 pandemic in Ecuador, in the canton of Riobamba. It draws attention to the need to safeguard basic aspects related to access to healthy food in developing countries and vulnerable populations whose exposure to global health problems will have dramatic impacts that will be difficult to recover from (*Biomed Biopharm Res*, 2024; 21(1), 70-86, doi: 10.19277/bbr.21.1.343).

The Reviews Section publishes a review resulting from another international collaboration, focusing on the taxonomy, ethnobotany, phytochemistry and biological activities of *Neocarya macrophylla* (Chrysobalanaceae) a species from West Africa characterised by its wide use, from food to traditional medicine, including industrial interest in a broad spectrum of applications. The review relates in particular the physicochemical, nutritional, phytochemical and pharmacological content from the perspective of its use as a food and health product (*Biomed Biopharm Res*, 2024; 21(1), 87-108. doi: 10.19277/bbr.21.1.331).

The evaluation of pharmaceutical intervention in patient adherence to antibiotic therapy is the subject of the following review. This is a topic of the utmost importance, not only because of the role of adherence to antibiotic therapy, but also because of the relevance of pharmaceutical intervention, which is recognised as underused, in the healthcare system. As this topic is still poorly documented, we particularly recommend reading it (*Biomed Biopharm Res*, 2024; 21(1), 109-126, doi: 10.19277/bbr.21.1.337).

The section concludes with a review of a popular non-invasive cosmetic procedure designed to improve the length and thickness of natural lashes. This review on eyelash extensions, of particular interest to professionals in the sector, covers the current state of the scientific literature on this subject, identifying limitations and opportunities (*Biomed Biopharm Res*, 2024; 21(1), 127-139. doi: 10.19277/bbr.21.1.332).

A influência das redes sociais e em especial do Instagram® nos hábitos quotidianos dos consumidores e das suas escolhas, independentemente da sua idade é o tema principal do artigo que aqui publicamos. Focado na influência desta aplicação e de criadores de conteúdo digital nas escolhas alimentares de um grupo de estudantes universitários (*Inv Biomed Biofarmaceutica*, 2024; 21(1), 56-69, doi: 10.19277/bbr.21.1.342).

Esta secção fecha com um outro artigo original, de colaboração internacional que analisa os principais determinantes que condicionaram o acesso aos alimentos durante a recente pandemia de COVID-19 no Equador, no cantão de Riobamba. Chama a atenção para a necessidade de acautelar aspectos básicos relacionados com o acesso a uma alimentação saudável em Países em desenvolvimento e em populações vulneráveis que, cuja exposição a problemas de saúde globais terá impactos dramáticos de difícil recuperação (*Inv Biomed Biofarmaceutica*, 2024; 21(1), 70-86, doi: 10.19277/bbr.21.1.343).

A Secção de Revisões publica uma revisão resultante de uma outra colaboração internacional, centrada na taxonomia, etnobotânica, fitoquímica e actividades biológicas da *Neocarya macrophylla* (Chrysobalanaceae) uma espécie oriunda da África Ocidental caracterizada pela sua ampla utilização, desde a alimentação à medicina tradicional, passando pelo interesse industrial num alargado espectro de aplicações. A revisão relaciona em especial o conteúdo físico-químico, nutricional, fitoquímico e farmacológicas na perspectiva da sua utilização como alimento e produto de saúde (*Inv Biomed Biofarmaceutica*, 2024; 21(1), 87-108. doi: 10.19277/bbr.21.1.331).

A avaliação da intervenção farmacêutica na adesão dos doentes à antibioterapia é o tema da revisão seguinte. Trata-se de um tema da maior importância não apenas pelo papel da adesão à terapêutica na antibioterapia como igualmente pela relevância da intervenção farmacêutica, reconhecidamente subaproveitada, no sistema de saúde. Sendo um tema ainda pouco documentado, recomendamos especialmente a sua leitura (*Inv Biomed Biofarmaceutica*, 2024; 21(1), 109-126, doi: 10.19277/bbr.21.1.337).

A secção é concluída com uma revisão acerca de um procedimento cosmético não invasivo popular destinado a melhorar o comprimento e a espessura das pestanas naturais. A presente revisão sobre extensões de pestanas, interessando em particular os profissionais do sector, abrange o estado atual da literatura científica sobre esta matéria identificando limitações e oportunidades (*Inv Biomed*

The Case Study section publishes a highly modern topic on Telerehabilitation as a transformative approach to traditional physiotherapy, presenting the results of a recent clinical study supported by the Clynx® Platform. The highly promising results particularly highlight the convenience and flexibility - optimisation of time, as well as the economy and sustainability of the resources mobilised, with objective advantages for all those involved in the process (*Biomed Biopharm Res*, 2024; 21(1), 140-162. doi: 10.19277/bbr.21.1.329).

This volume also includes six additional Supplements in the Abstracts of Scientific Meetings section - the Book of Abstracts of the IV Jornadas Lusófonas de Nutrição (10.19277/bbr.21.2.336) and the Book of Abstracts of the CBIOS 2024 Sessions (10.19277/bbr.21.2.345) organised by CBIOS - Universidade Lusofona Research Center for Biosciences and Health Technologies, the Book of Abstracts 36º Congresso Brasileiro de Cosmetologia (10.19277/bbr.21.2.338) organised by ABC - Associação Brasileira de Cosmetologia, the Books of Abstracts of the XXXVIII Annual Meeting (10.19277/bbr.21.2.339) and FeSBE Regional 2024 - Uberlândia (10.19277/bbr.21.2.344) organised by FeSBE - Federação de Sociedades de Biologia Experimental, and the Book of Abstracts of the LIX Congresso Anual da SBFis (10.19277/bbr.21.2.340) organised by SBFis - Sociedade Brasileira de Fisiologia.

We thank these contributors for choosing to share their work with the world through our journal. We invite you to participate in this endeavour next year.

Best regards,

Luís Monteiro Rodrigues
Editor-in-Chief

Biofarmaceutica, 2024; 21(1), 127-139. doi: 10.19277/bbr.21.1.332).

A secção de Estudo de Caso publica um tema da maior modernidade sobre a Telereabilitação como abordagem transformadora da fisioterapia tradicional, apresentando resultados de um estudo clínico recente suportado pela Plataforma Clynx®. Os resultados, altamente promissores, evidenciam particularmente a conveniência e flexibilidade - otimização dos tempos, bem como a economia e sustentabilidade dos recursos mobilizados, com vantagens objectivas para todos os intervenientes do processo (*Inv Biomed Biofarmaceutica*, 2024; 21(1), 140-162. doi: 10.19277/bbr.21.1.329).

Este volume inclui ainda seis Suplementos adicionais na secção de Resumos de Reuniões Científicas - o Livro de Resumos das IV Jornadas Lusófonas de Nutrição (10.19277/bbr.21.2.336) e o Livro de Resumos das Sessões CBIOS 2024 (10.19277/bbr.21.2.345) organizados pelo CBIOS - Universidade Lusofona Research Center for Biosciences and Health Technologies, o Livro de Resumos 36º Congresso Brasileiro de Cosmetologia (10.19277/bbr.21.2.338) organizado pela ABC - Associação Brasileira de Cosmetologia, os Livros de Resumos do XXXVIII Encontro Anual (10.19277/bbr.21.2.339) e do FeSBE Regional 2024 - Uberlândia (10.19277/bbr.21.2.344) organizados pela FeSBE - Federação de Sociedades de Biologia Experimental, e o Livro de Resumos do LIX Congresso Anual da SBFis (10.19277/bbr.21.2.340) organizado pela SBFis - Sociedade Brasileira de Fisiologia.

Agradecemos a estes contribuidores por terem escolhido partilhar o seu trabalho com o mundo através da nossa revista. Convidamo-lo a participar neste esforço no próximo ano.

Bem hajam.

Luís Monteiro Rodrigues
Editor Chefe

Asymmetric Adler-Becker reaction – an open issue

Reação Adler-Becker assimétrica – um assunto em aberto

Andreia A. Rosatella ¹   & Carlos A. M. Afonso ² **Keywords:** Adler-Becker reaction, oxidation, chirality, spiroepoxydienones**Palavras-chave:** Reação de Adler-Becker, oxidação, quiralidade, espiroepoxidienonas**To Cite:**Rosatella, A. A. & Afonso C. A. M. (2024)
Asymmetric Adler-Becker reaction – an open
issue. *Biomedical and Biopharmaceutical
Research*, 21(1), 4-14. [10.19277/bbr.21.1.334](https://doi.org/10.19277/bbr.21.1.334)1 - CBIOS - Research Center for Biosciences & Health
Technologies, Lusófona University, Campo Grande
376, 1749-024 Lisboa, Portugal2- Research Institute for Medicines (iMed.Ulisboa),
Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa,
Av. Professor Gama Pinto, 1649-003 Lisboa, PortugalCorrespondence to / Correspondência a:
andreia.rosatella@ulusofona.pt

Received / Recebido: 06/01/2024

Accepted / Aceite: 23/04/2024

Abstract

The Adler-Becker reaction, described in the 1970s, plays a crucial role in the total synthesis of numerous natural products. This reaction describes the transformation of salicylic alcohols into spiroepoxydienones through oxidative dearomatization. Despite its widespread use, the literature lacks a description of the chiral version of this reaction. In this study, we detail several attempts to achieve asymmetry, utilizing a biphasic solvent system with various potential chiral phase transfer catalysts (including chinchonine and sparteine). Additionally, we explored periodate salts with chiral cations and sodium periodate immobilized in a chiral cationic resin. Although the desired enantioselectivity remained elusive, we believe that this work can contribute to the scientific community, as it can serve as a guiding reference for exploring novel chiral approaches in this reaction.

Resumo

A reação de Adler-Becker foi descrita nos anos 70, e desde então tem vindo a desempenhar um papel crucial na síntese total de diversos produtos naturais. Esta reação descreve a transformação de álcoois salicílicos em espiroepoxidienonas por dearomatização oxidativa. Apesar do seu amplo uso, a versão quiral desta reação ainda não foi descrita. Neste estudo, descrevemos várias tentativas para alcançar quiralidade, utilizando um sistema de solventes bifásico com vários potenciais catalisadores de transferência de fase quirais (incluindo cinchonina e esparteína). Para além disso, exploramos também sais de periodato com catiões quirais e periodato de sódio imobilizado numa resina catiónica quiral. Embora a enantioselectividade desejada tenha permanecido elusiva, acreditamos que este trabalho pode contribuir para a comunidade científica, uma vez que pode servir como uma referência orientadora para explorar abordagens quirais inovadoras nesta reação.

Introduction

Chirality is essential for comprehending and influencing a wide range of chemical and biological phenomena. This importance stems from the fact that most biologically active compounds possess chirality. The growing significance of chiral molecules in the synthesis of pharmaceuticals, agrochemicals, and advanced materials has spurred continuous interest in the development of effective methodologies for obtaining enantiomerically pure products. Many reactions are initially tested in their racemic form and are often upgraded to their chiral versions. However, this transition to the chiral version is not straightforward and often involves the use of sophisticated methodologies and meticulous optimization.

The Adler-Becker reaction (Figure 1) is a valuable technique for the oxidative dearomatization of salicylic alcohols, leading to the formation of spiroepoxydienones (1,2). This method has found application in the total synthesis of various bioactive natural products (3). Notably, it played a crucial role in the synthesis of (-)-4-hydroxyzinowol, an inhibitor of P glycoprotein associated with multidrug resistance in cancer treatment (4). Moreover, this reaction has been employed in the total synthesis of triptolide, which shares a structural backbone with bioactive diterpene natural products (5). Additionally, Corey documented the initial total synthesis of ovalicin in 1985, utilizing the Adler-Becker reaction (6). Ovalicin, a natural product that advanced to phase 3 clinical trials due to its antiangiogenic properties, showcases the versatility of this reaction (7).

In our recent research into the Adler-Becker reaction, we have explored the development of a heterogeneous oxidant while using periodate, and demonstrated its efficiency in a streamlined continuous flow process (8). This innovative approach presents numerous benefits, including heightened

Introdução

A quiralidade é fundamental para compreender e influenciar uma ampla gama de fenômenos químicos e biológicos. Esta importância advém do facto de que a maioria dos compostos biologicamente ativos possui quiralidade. A crescente relevância das moléculas quirais na síntese de produtos farmacêuticos, agroquímicos e materiais avançados tem suscitado um interesse contínuo no desenvolvimento de metodologias eficazes para obter produtos enantiomericamente puros. Muitas reações são inicialmente testadas na sua forma racémica e frequentemente são melhoradas para as suas versões quirais, apesar desta transição para a versão quiral não ser direta e frequentemente envolve o uso de metodologias sofisticadas e uma otimização meticulosa.

A reação de Adler-Becker (Figura 1) é uma técnica importante para a desaromatização oxidativa de álcoois salicílicos, levando à formação de espiroepoxidienonas (1,2). Este método é bastante versátil, e frequentemente aplicado na síntese total de diversos produtos naturais bioativos (3), como o (-)-4-hidroxizinowol, um inibidor da glicoproteína P associado à resistência a múltiplos medicamentos no tratamento do cancro (4). Para além disso, esta reação foi utilizada na síntese total do composto triptolide, que partilha uma estrutura básica com produtos naturais bioativos do tipo diterpeno (5). Adicionalmente, Corey publicou a síntese total inicial de ovalicina em 1985, utilizando a reação de Adler-Becker (6). A ovalicina é um produto natural que avançou para ensaios clínicos de fase 3 devido às suas propriedades antiangiogénicas (7).

Na nossa mais recente investigação sobre a reação de Adler-Becker, exploramos o desenvolvimento de um oxidante heterogéneo baseado em periodato, demonstrando a sua eficácia num processo contínuo de fluxo otimizado (8). Esta abordagem inovadora

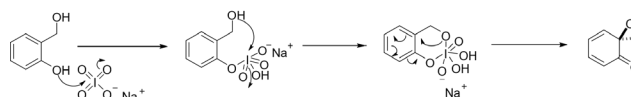


Figure 1 - General scheme of Adler-Becker reaction.
Figura 1 - Esquema geral da reação de Adler-Becker.

productivity and reduced reaction times compared to traditional batch conditions. The continuous flow methodology not only enhances reaction yields but also mitigates undesirable side reactions, streamlining the isolation process of spiroepoxydienones. Despite the significance of this reaction, to the best of our knowledge, its chiral version has not yet been described.

In 2019, an example of the synthesis of chiral spiroepoxydienones was described, where researchers reported the use of hydrogen peroxide in facilitating oxidative dearomatizations of 2-(hydroxymethyl)phenols using their corresponding bis(dichloroacetates) (9). This process involves a mechanism distinct from other phenol dearomatization methods, such as Adler-Becker reaction, and allows chiral products to be obtained.

In this study, we report the attempt to achieve the asymmetric version of Adler-Becker reaction using three distinct approaches: the use of chiral phase-transfer catalysts, flow chemistry with a chiral promoter, and a chiral iodine catalyst. Although none of these approaches resulted in the transfer of chirality to the final product, the obtained results can still act as an important guide for new chiral approaches in this specific reaction. As such, it is of utmost importance for the scientific community.

Materials and Methods

Solvents were distilled prior to use. The chemicals used were purchased from Aldrich or Alfa Aesar. ^1H and ^{13}C -NMR spectra were recorded in CDCl_3 or DMSO-d_6 on a Bruker ARX 300 spectrometer at 300 and 100.62 MHz, respectively. Chemical shifts are expressed in parts per million (ppm) relative to tetramethylsilane (TMS). The coupling constants (J) are reported in Hertz (Hz). Chiral HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) analysis was performed using a Shimadzu pump (LC-20AT) and a detector of diode array (DAD SPD-M20A), with a column commercial Lux[®] 5 μm Cellulose-3 Chiral Column, 250 x 4.6 mm (using a mixture of 90:10 hexane/isopropanol as eluent).

apresenta inúmeras vantagens, incluindo uma maior produtividade e menores tempos de reação em comparação com as condições tradicionais em batch. A metodologia de fluxo contínuo não só melhora os rendimentos da reação, mas também mitiga reações secundárias indesejáveis, simplificando o processo de isolamento do produto final. No entanto, apesar da importância desta reação a sua versão quiral ainda não foi descrita.

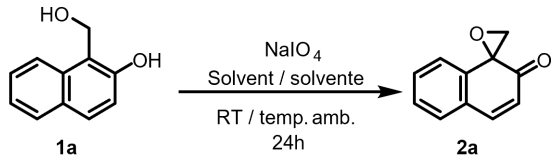
Em 2019, foi descrito um exemplo de síntese quiral de espiroepoxidienonas, onde os investigadores reportaram o uso de peróxido de hidrogénio para facilitar desaromatizações oxidativas de 2-(hidroximetil)fenóis usando os respetivos bis(dicloroacetatos) (9). Este processo envolve um mecanismo distinto de outros métodos de desaromatização de fenóis, como a reação de Adler-Becker, levando a produtos quirais.

Neste estudo, reportamos a tentativa de alcançar a versão assimétrica da reação de Adler-Becker usando três abordagens distintas: o uso de catalisadores de transferência de fase quiral, química em fluxo com um promotor quiral e um catalisador quiral de iodo. Embora nenhuma destas abordagens tenha resultado na transferência de quiralidade para o produto final, os resultados obtidos podem servir como importante guia para novas abordagens quirais nesta reação específica. Como tal, é de extrema importância para a comunidade científica.

Material e Métodos

Todos os solventes foram destilados antes de serem utilizados. Todos os reagentes foram adquiridos na Aldrich ou na Alfa Aesar. Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram registados em CDCl_3 ou DMSO-d_6 num espectrómetro Bruker ARX 300 a 300 e 100.62 MHz, respetivamente. Os deslocamentos químicos são expressos em partes por milhão (ppm) relativamente ao tetrametilsilano (TMS). As constantes de acoplamento (J) são reportadas em Hertz (Hz). A análise quiral por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi realizada utilizando uma bomba Shimadzu (LC-20AT) e um detetor de matrizes de díodos (DAD SPD-M20A), com uma coluna comercial Lux[®] 5 μm Cellulose-3 Chiral, 250 x 4,6 mm (hexano/isopropanol 90:10).

Table 1 - Solvent screening, with and without a phase transfer catalyst (PTC) (Aliquat®).**Tabela 1** - Rastreo de solventes, com e sem um catalisador de transferência de fase (PTC) (Aliquat®).

		
Solvent / Solvente	Aliquat® (20 mol%)	Yield / Rendimento (%)
methanol / metanol	Yes	89
	No	89
acetone / acetona	Yes	88
	No	88
tetrahydrofuran / tetrahidrofurano (THF)	Yes	0
	No	0
acetonitrile / acetonitrilo (ACN)	Yes	0
	No	0
iso-butyl-methylketone / iso-butil-metilcetona (IBMK)	Yes	30
	No	0
methyl ethyl ketone / metiletilcetona (MEK)	Yes	50
	No	0

Purification of 2-hydroxy-1-naphthaldehyde

2-hydroxy-1-naphthaldehyde was dissolved in ethanol (10 g in 50 mL) and heated until complete dissolution. The solution was then left to cool to room temperature and kept at 5°C for 24 hours. After filtration, a yellow solid was obtained, with a recrystallization yield of 65%.

Synthesis of salicylic alcohol from salicylic aldehyde

2-hydroxy-1-naphthaldehyde was recrystallized in ethanol prior to its use; subsequently, it was dissolved in methanol (100 mg in 6 mL), and NaBH₄ (1 equiv.) was introduced. The resulting mixture was stirred at room temperature for 1 hour, followed by the addition of water (6 mL) and 0.1M HCl (0.1 μL, or until pH 7) to neutralize the reaction medium. After evaporation of the methanol, the aqueous solution was extracted with 3x20 mL of dichloromethane. The organic phase was dried using anhydrous Na₂SO₄, and then evaporated to yield 1-(hydroxymethyl)naphthalen-2-ol [Compound 1a] as a white solid. Compound 1a: HRMS (ESI): Calculated for C₁₁H₉O₂ [M]⁻: 173.0608; measured: 173.0599. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7.71 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.52 (dd, J = 12.8, 8.7 Hz, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.19 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 5.03 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) δ 155.0, 131.1, 128.6, 127.2, 127.0, 126.0, 121.5, 120.8, 115.9, 59.6.

Purificação do 2-hidroxi-1-naftaldeído

Foram dissolvidas 10 g de 2-hidroxi-1-naftaldeído em 50 mL de etanol, e a solução foi aquecida até dissolução completa. De seguida a solução foi arrefecida até à temperatura ambiente, e mantida a 5°C durante 24h. Depois de uma filtração foi obtido um sólido amarelo pálido, com um rendimento de recristalização de 65%.

Síntese de álcool salicílico a partir do aldeído

O 2-hidroxi-1-naftaldeído (A) foi recristalizado em etanol antes da sua utilização. Posteriormente, foi dissolvido em metanol (100 mg em 6 mL) e adicionou-se NaBH₄ (1 equiv.). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora. Em seguida, foram adicionados água (6 mL) e HCl (0,1 μL de HCl 0,1 M, ou até pH 7) para neutralizar o meio reacional. Posteriormente, o metanol foi removido por evaporação, e a solução aquosa foi extraída com diclorometano (3x20 mL). A fase orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro e evaporada para obter um sólido. O 1-(hidroximetil)naftalen-2-ol [Composto 1a] foi obtido como um sólido branco. Composto 1a: HRMS (ESI): Calculado para C₁₁H₉O₂ [M]⁻: 173,0608; encontrado: 173,0599. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7.71 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.52 (dd, J = 12.8, 8.7 Hz, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.19 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 5.03 (s, 2H). ¹³C RMN (75 MHz, DMSO-d₆) δ 155.0, 131.1, 128.6, 127.2, 127.0, 126.0, 121.5, 120.8, 115.9, 59.6.

Solvent screening

Twenty (20) mg of Compound 1a and a 1.1 equivalent of sodium periodate were added to 2 mL of each respective solvent. The resulting mixture was stirred for 24 hours at room temperature, after which the crude reaction product was analysed by ¹H-NMR to determine the yield following isolation by chromatography. The white solid obtained was identified as 3H-spiro[naphthalene-2,2'-oxiran]-3-one [Compound 2a]. The solvents tested were methanol, acetone, tetrahydrofuran (THF), acetonitrile (ACN), iso-butyl-methylketone (IBMK), and methylethylketone (MEK).

Compound 2a: HRMS (ESI): Calcd for C₁₁H₇O₂ [M]⁻: 171.0452; found: 171.0443. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.61 (1H, d, J = 10.0 Hz), 7.47 – 7.33 (3H, m), 7.31 – 7.19 (1H, m), 6.35 (1H, d, J = 10.0 Hz), 3.40 (1H, d, J = 8.1 Hz), 3.14 (1H, d, J = 8.1 Hz). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 194.3, 145.7, 137.4, 131.8, 130.4, 129.7, 128.6, 125.5, 123.5, 77.5, 77.0, 76.6, 63.7.

Reaction optimization using chiral phase transfer catalyst (CPTC)

General procedure for CPTC 1 and CPTC 2

Compound 1a (100 mg) was added to 2 mL of IBMK or MEK solvent (5 mL) and 10 mol% of CPTC, followed by the addition of 1.1 equivalents of sodium periodate (135 mg) dissolved in 0.5 mL of water. After stirring for 24 hours at room temperature, the product was isolated by column chromatography, and analysed by chiral HPLC.

General procedure for CPTC 3-11

Compound 1a (100 mg) was added to 2 mL of IBMK or MEK solvent (5 mL), followed by 1.2 equivalent of CPTC. After stirring for 24 hours at room temperature, the product was isolated by column chromatography, and analysed by chiral HPLC.

Rastreo de solventes

O Composto 1a (20 mg) foi adicionado ao solvente (2 mL), com 1,1 equivalente de periodato de sódio. A mistura foi agitada durante 24 horas à temperatura ambiente. Posteriormente, o crude da reação foi analisada por ¹H-RMN de para calcular o rendimento e posteriormente isolada por cromatografia. O 3H-spiro[naftaleno-2,2'-oxiran]-3-ona foi obtido como um sólido branco [Composto 2a]. Os solventes testados foram: metanol, acetona, tetrahidrofurano (THF), acetonitrilo (ACN), isobutil-metilcetona (IBMK), e metileticetona (MEK).

Composto 2a: ¹H-RMN de (300 MHz, CDCl₃) δ 7,61 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,47 – 7,33 (m, 3H), 7,31 – 7,19 (m, 1H), 6,35 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 3,40 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 3,14 (d, J = 8,1 Hz, 1H). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 194,37, 145,78, 137,45, 131,87, 130,49, 129,72, 128,68, 125,56, 123,59, 77,51, 77,09, 76,66, 63,73. HRMS (ESI): Calculado para C₁₁H₇O₂ [M]⁻ : 171,0452; encontrado: 171,0443.

Otimização da reação usando Catalisadores de Transferência de Fase (CPTC)

Procedimento Geral para CPTC 1 e CPTC 2

O composto 1a (100 mg) foi adicionado a 2 mL de solvente IBMK ou MEK (5 mL) e a 10% em mol de CPTC, seguido da adição de periodato de sódio (1,1 eq., 135 mg) dissolvido em 0,5 mL de água. A mistura foi agitada durante 24 horas à temperatura ambiente. Posteriormente, o produto foi isolado por cromatografia em coluna e analisado por HPLC.

Procedimento Geral para CPTC 3-11

O composto 1a (100 mg) foi adicionado a 2 mL de solvente IBMK ou MEK (5 mL), seguido por 1,2 equivalentes de CPTC. A mistura foi agitada durante 24 horas à temperatura ambiente. Posteriormente, o produto foi isolado por cromatografia em coluna e analisado por HPLC.

Abbreviations: PTC – phase-transfer catalyst; CPTC – chiral phase-transfer catalyst; THF – tetrahydrofuran; ACN – acetonitrile; IBMK – iso-butyl-methylketone; MEK – methylethylketone; Equiv. – equivalents; mCPBA – meta-chloroperoxybenzoic acid; DIAD – diisopropyl azodicarboxylate; e.e. – enantiomeric excess

Abreviaturas: PTC – catalisador de transferência de fase; CPTC – catalisador de transferência de fase quiral; THF – tetrahidrofurano; ACN – acetonitrilo; IBMK – iso-butil-metilcetona; MEK – metileticetona; Equiv. – equivalentes; mCPBA – ácido meta-clorobenzoico; DIAD – azodicarboxilato de diisopropilo; e.e. – excesso enantiomérico

Results and Discussion

Since Adler–Becker reaction is a valuable methodology in new compound synthesis, it is important to explore the asymmetric version of this reaction. The rationale for this study was based on the assumption that the reaction mechanism includes a potential charge on the promoter, as shown in Figure 2. Therefore, we decided to attempt a chiral approach, where a chiral phase-transfer catalyst (PTC) would be employed, inducing chirality in the final product.

The first step was to study the possibility of performing the reaction in a biphasic system. For that, different solvents were tested, using Aliquat® as a PTC. As shown in Table 1, the best yield was achieved when methanol and acetone were used, although these solvents were not suitable for a biphasic reaction, since they are completely miscible with the reaction promoter NaIO_4 and also with the reagents. In addition, the presence of Aliquat® did not interfere with the reaction using methanol, acetone, THF, or acetonitrile, while considerable effect was observed for methyl ethyl ketone (MEK) and isobutyl methyl ketone (IBMK) (Table 1). For this reason, we continued the PTC studies using MEK or IBMK as solvents.

The above reactions have demonstrated the viability of conducting the Adler-Becker reaction in a biphasic system, using a phase transfer catalyst as a reaction promoter. Consequently, our initial attempt to induce asymmetry into the product involved the application of a chiral phase transfer catalyst (CPTC), as depicted in Figure 3. Both employed CPTCs had the potential to induce chirality to the resulting product since the chiral centre proximity to the cation leads the substrate to bind in the same preferable position. However, no enantiomeric excess (e. e.) was observed when implementing 20 or even 100 mol% of the CPTC.

Resultados e Discussão

A reação de Adler–Becker é uma metodologia essencial na formação de novos compostos, nomeadamente na síntese total de compostos bioactivos, por isso é importante explorar a sua versão assimétrica. A base para este estudo está na ideia de que o mecanismo da reação pode potencialmente envolver uma carga no promotor, conforme mostra a Figura 2. Portanto, decidimos explorar uma abordagem quiral, utilizando um catalisador de transferência de fase quiral (CPTC) para introduzir quiralidade no produto final.

Como primeiro passo, investigou-se a viabilidade de realizar a reação num sistema bifásico. Diversos solventes foram testados, utilizando Aliquat® como PTC. Conforme demonstrado na Tabela 1, os melhores rendimentos foram obtidos com o uso de metanol e acetona. Contudo, estes solventes não são ideais para uma reação bifásica, uma vez que se mostraram completamente miscíveis tanto com o promotor da reação (NaIO_4) quanto com os reagentes. Além disso, a presença de Aliquat® não interferiu na reação quando foram utilizados metanol, acetona, THF e acetonitrilo, embora tenhamos observado um efeito considerável com a metil-etilcetona (MEK) ou a isobutil-metilcetona (IBMK) (Tabela 1). Por esta razão, prosseguiu-se com os estudos de PTC, utilizando MEK ou IBMK como solventes.

Estas últimas reações confirmaram a viabilidade da reação de Adler-Becker num sistema bifásico, utilizando um catalisador de transferência de fase como promotor da reação. Sendo assim, a primeira tentativa de tornar a reação assimétrica foi feita com a utilização de um CPTC, conforme mostra a Figura 3. Ambos os CPTC usados poderiam induzir quiralidade no produto obtido uma vez que o seu centro quiral situa-se perto da carga positiva do catião. No entanto, não observamos nenhum excesso enantiomérico (e. e.) ao utilizar 20 ou 100 mol% do CPTC.

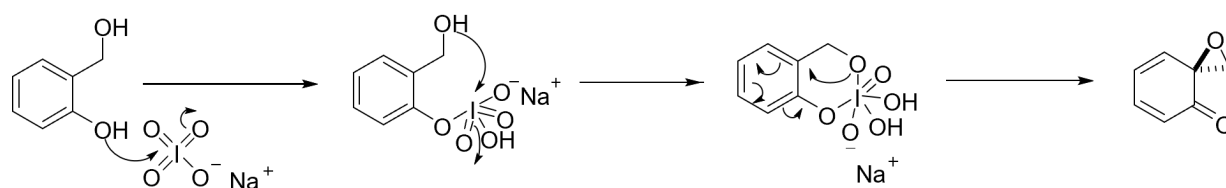


Figure 2 - Proposed mechanism for the Adler–Becker reaction.
Figura 2 – Mecanismo proposto para a reação Adler–Becker.

The second asymmetric approach was via the replacement of sodium cation in sodium periodate salt with a chiral cation that may induce chirality into the final product (Figure 4).

As shown in Figure 4, several chiral cations were tested, resulting in low to moderate yields, although without any chiral induction on the final product.

Uma segunda abordagem assimétrica foi através da substituição do cátion sódio no sal de periodato de sódio por um cátion quiral que pode induzir quiralidade no produto final (Figura 4).

Como mostrado no Figura 4, vários cátions quirais foram testados, resultando em rendimentos baixos a moderados, embora sem qualquer indução de quiralidade no produto final.

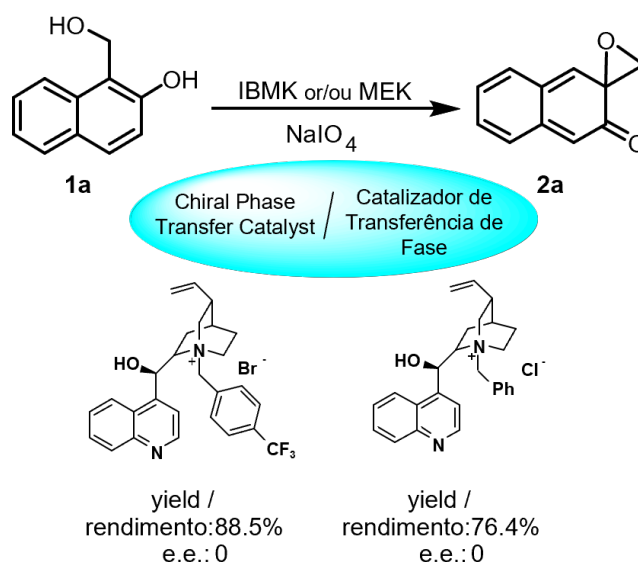


Figure 3 - Addition of a chiral phase transfer catalyst (CPTC) to the reaction media. Enantiomeric excess was determined by chiral HPLC.

Figura 3 - Adição de um catalisador de transferência de fase quiral (CPTC) ao meio reacional. O excesso enantiomérico foi determinado por HPLC quiral.

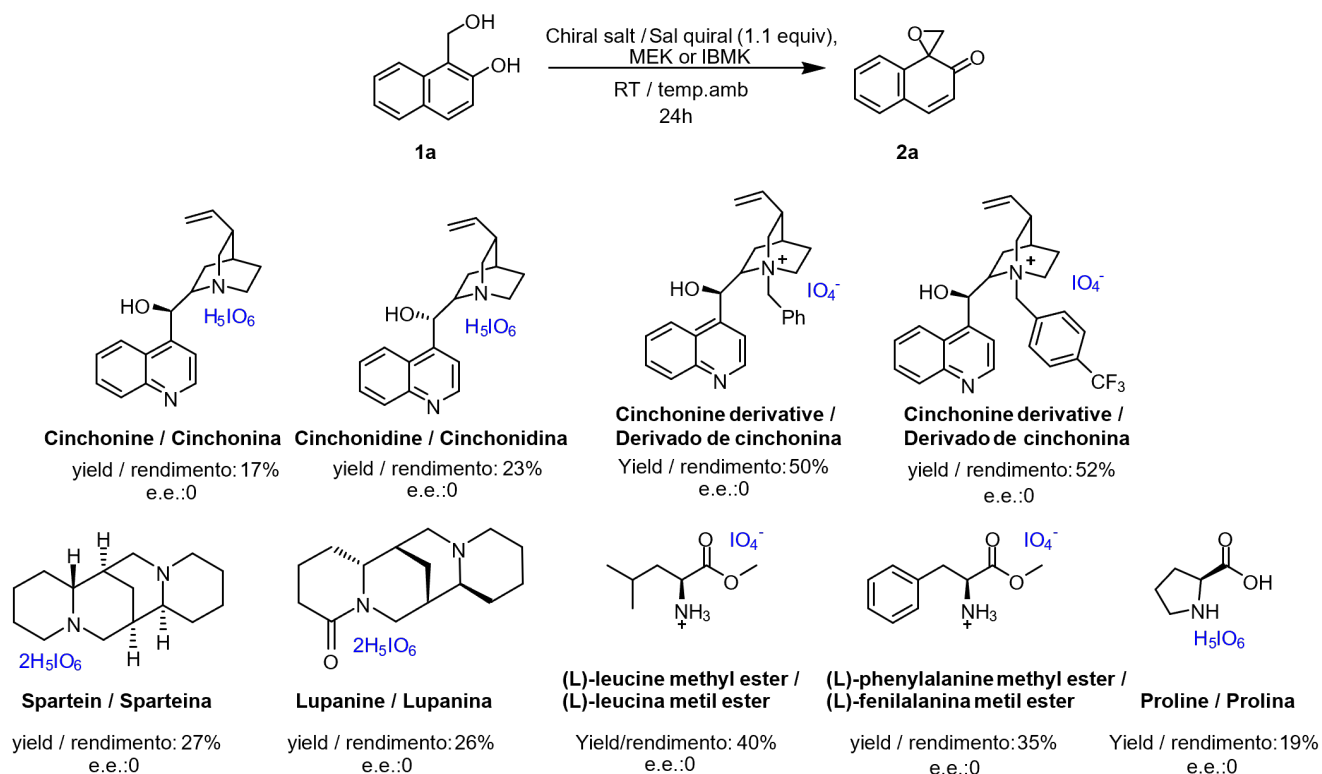


Figure 4 - Different chiral promoters tested for the Adler-Becker reaction.

Figura 4 - Diferentes promotores quirais testados para a reação de Adler-Becker.

Chiral hypervalent iodine has been reported as a catalyst for enantioselective oxidative reactions (10), including the enantioselective oxidative dearomatization of phenols (11). Therefore, a different asymmetric approach was made via the synthesis of a hypervalent iodine catalyst that has an asymmetric group in order to induce chirality to the final product (Figure 5). The synthesis of iodo-catalyst A was conducted following reported procedures (10).

The oxidation reaction was performed in the presence of iodo catalyst A, and meta-chloroperoxybenzoic acid (mCPBA) as co-oxidant. However, the spiroepoxydienones remained elusive using this methodology (Figure 6).

O iodo hipervalente quiral tem sido descrito como catalisador para reações oxidativas enantiosseletivas (10), incluindo a desaromatização enantiosseletiva de fenóis (11). Assim, exploramos uma abordagem assimétrica alternativa através da síntese de um catalisador de iodo hipervalente que contém um grupo assimétrico na sua estrutura, para induzir quiralidade ao produto final (Figura 5). A síntese do catalisador de iodo A foi realizada de acordo com métodos já reportados (10).

A reação de oxidação foi realizada na presença do catalisador de iodo A, e do ácido meta-cloroperoxibenzoico (mCPBA) como co-oxidante. No entanto, os espiroepoxidienonas permaneceram elusivas usando esta metodologia (Figura 6).

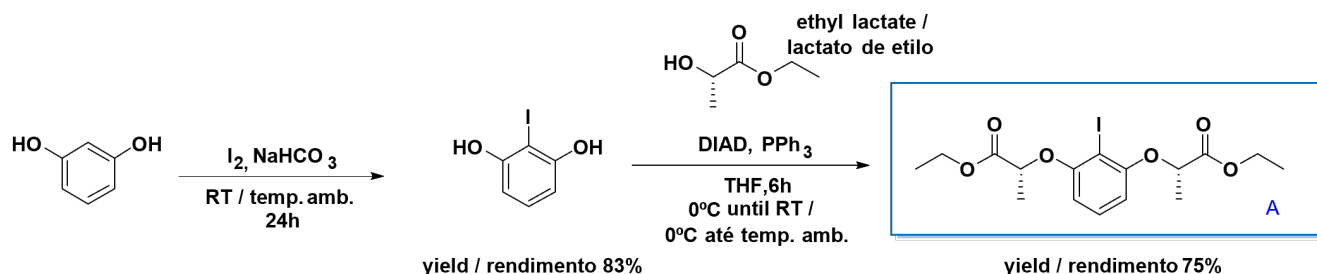


Figure 5 - Synthesis of the chiral iodo catalyst (10).

Figura 5 – Síntese do catalisador de iodo quiral (10).

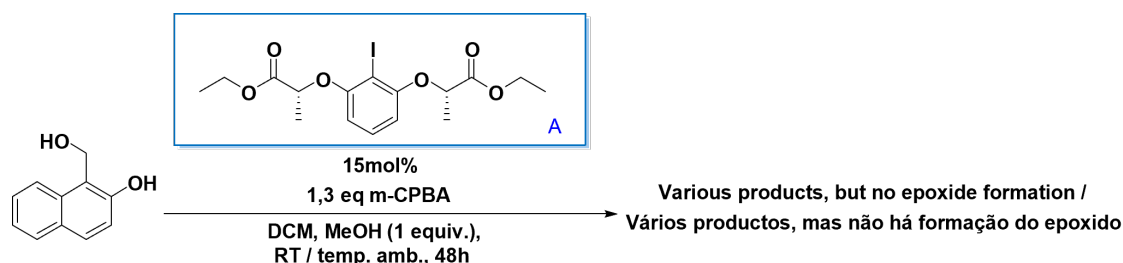


Figure 6 - Adler-Becker reaction with chiral iodo catalyst A as reaction promoter, and m-CPBA as co-oxidant.

Figura 6 - Reação de Adler-Becker usando o catalisador de iodo A quiral como promotor da reação e m-CPBA como co-oxidante.

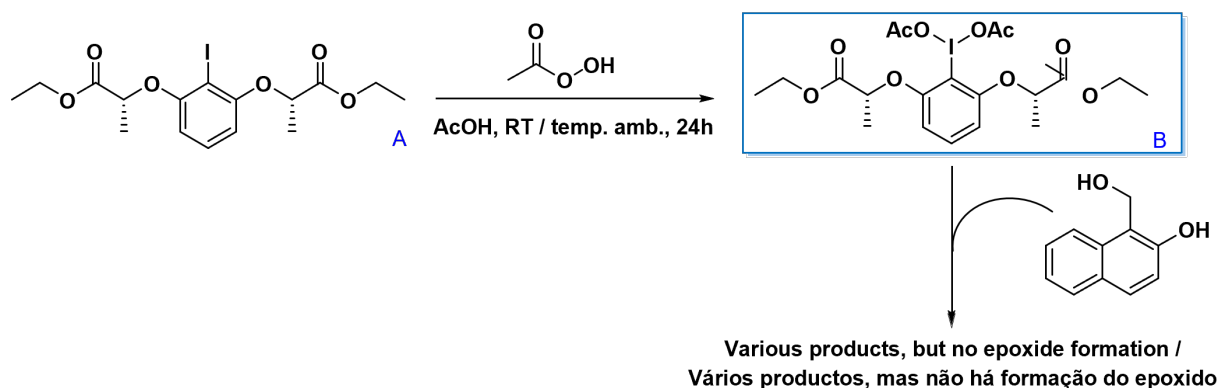


Figure 7 - Adler-Becker reaction with chiral iodo catalyst.

Figura 7 - Reação de Adler-Becker usando um catalisador de iodo quiral

In order to enhance the Adler-Becker reaction, the iodo catalyst A was oxidized to iododiacetate B; however, no spiroepoxydienones were obtained (Figure 7).

The last asymmetric approach was performed using a chiral resin (L-Proline-2-chlorotrityl and L-proline 4-oxymethylphenylacetamidomethyl resins), where the resin was protonated with periodic acid, resulting in a chiral resin with IO_4^- as the anion (Figure 8). Following the reported procedure for the Adler-Becker reaction in flow (8), it was possible to observe the formation of the desired product, although with no enantioselectivity.

Conclusion

Despite several attempts to achieve chiral spiroepoxydienones (9,12), to the best of our knowledge, the asymmetric Adler-Becker reaction is still untapped. In this work, we have described several asymmetric approaches, including a biphasic solvent system in the presence of several potential CPTC (chinchonine and sparteine, among others), using periodate salts with chiral cations, and using sodium periodate immobilized in a chiral cationic resin. Nevertheless, in all cases, racemic products were obtained. These results suggest that the reaction mechanism may involve the formation of non-ionic intermediate before iodide reduction step (4), being less prone to chiral induction by chiral cations. Those results may open the possibility of designing an efficient asymmetric approach, such as via a distinct reaction pathway and/or via an asymmetric mode of interaction.

Com o intuito de melhorar a reação de Adler-Becker, o catalisador de iodo A foi transformado em iododiacetato B, mas, mesmo assim, não conseguimos obter espiroepoxidienonas (Figura 7).

A última tentativa de abordagem assimétrica, utilizou-se uma resina quiral (L-Proline-2-clorotrityl e resina L-prolina 4-oximetilfenilacetamidometílica), onde a resina foi protonada com ácido periódico, resultando numa resina quiral com IO_4^- como anião (Figura 8). Seguindo o procedimento já descrito para a reação de Adler-Becker em fluxo (8), observou-se a formação do produto desejado, embora sem alcançar seletividade enantioespecífica.

Conclusões

Apesar de várias tentativas para obter espiroepoxidienonas (9,12) assimétricas, até à data da nossa pesquisa, a reação de Adler-Becker assimétrica ainda não foi bem-sucedida. Neste estudo, exploramos diversas abordagens assimétricas, incluindo a utilização de diferentes catalisadores de transferência de fase quiral (como cinchonina e esperteína) num sistema de solvente bifásico, bem como a incorporação de catões quirais em sais de periodato e a imobilização do periodato de sódio numa resina catónica quiral. No entanto, em todos os casos, obtivemos um produto racémico. Estes resultados sugerem que o mecanismo da reação pode envolver a formação de um intermediário não iónico antes da etapa de redução do iodeto (4), o que dificulta a indução de quiralidade pelos catiões quirais. Estes resultados abrem possibilidades para futuros esforços na conceção de uma abordagem assimétrica mais eficiente para a reação de Adler-Becker, talvez através de uma via de reação distinta e/ou modo de interação assimétrico.

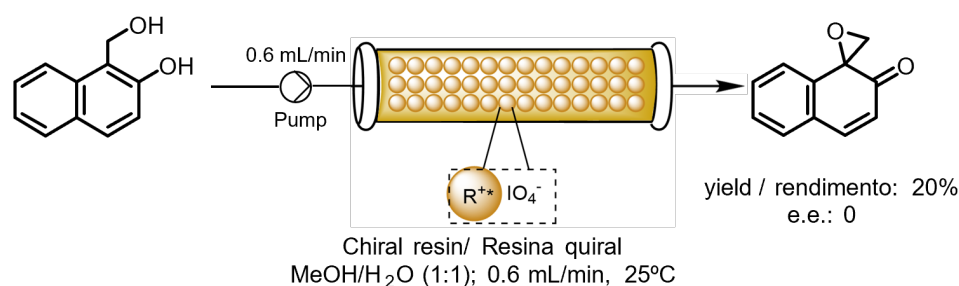


Figure 8 - Adler-Becker chiral attempt using chiral resins as support.

Figura 8 - Reação de Adler-Becker quiral em fluxo utilizando resinas quirais como suporte.

Authors Contributions Statement

The manuscript was written with equal contributions from both authors: AR and CA conceptualization and study design; AR experimental implementation; AR and CA, data analysis; AR, drafting, editing, and reviewing; AR, figures and graphics; AR and CA, supervision and final writing. Both authors have given approval to the final version of the manuscript.

Funding

This work was supported by Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT, Portugal) through DOI 10.54499/UIDP/04567/2020 and DOI 10.54499/UIDB/04567/2020, EXPL/OCE-ETA/1109/2021, PTDC/QUI-QOR/32008/2017, UIDB/04138/2020, UIDP/04138/2020).

Conflict of Interests

The authors declare there are no financial and/or personal relationships that could present a potential conflict of interests.

Declaração sobre as contribuições do autor

O manuscrito foi escrito com contribuições iguais de todos os autores: AR e CA conceção e desenho do estudo; AR implementação experimental; AR e CA, análise de dados; AR, redação, edição e revisão; AR, , figuras e gráficos; AR e CA, supervisão e redação final. Todos os autores deram aprovação à versão final do manuscrito.

Financiamento

Este trabalho foi financiado por Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT, Portugal), (DOI 10.54499/UIDP/04567/2020 and DOI 10.54499/UIDB/04567/2020, e EXPL/OCE-ETA/1109/2021, PTDC/QUI-QOR/32008/2017, UIDB/04138/2020, UIDP/04138/2020).

Conflito de Interesses

Os autores declaram que não há relações financeiras e/ou pessoais que possam representar um potencial conflito de interesses.

References / Referências

1. Adler, E., Holmberg, K., & Ryrfors, L. O. (1974). Periodate Oxidation of Phenols . XIV. Oxidation of P-Hydroxybenzyl Alcohol with Periodate and Bismuthate. *Acta Chemica Scandinavica Series B-Organic Chemistry and Biochemistry, B* 28(8), 883-887. doi:10.3891/acta.chem.scand.28b-0883
2. Becker, H. D., Bremholt, T., & Adler, E. (1972). Oxidative Formation and Photochemical Isomerization of Spiro-Epoxy-2,4-Cyclohexadienones. *Tetrahedron Letters* 13 (41), 4205-4208. doi:10.1016/S0040-4039(01)94276-5
3. Singh, V., Pal, S., Tosh, D. K., Mobin, S. M. (2007). Molecular complexity from aromatics. Cycloaddition of cyclohexa-2,4-dienones, sigmatropic 1,2-acyl shift and ring-closing metathesis: a new, efficient, and stereoselective synthesis of (±)-hirsutic acid C and medium ring carbocycles. *Tetrahedron*, 63(11), 2446-2454. doi:10.1016/j.tet.2007.01.006
4. Todoroki, H., Iwatsu, M., Urabe, D., Inoue, M. (2014). Total synthesis of (-)-4-hydroxyzinowol. *Journal of Organic Chemistry*, 79(18), 8835-8849. doi:10.1021/jo501666x
5. Yang, D., Ye, X. Y., & Xu, M. (2000). Enantioselective total synthesis of (-)-triptolide, (-)-triptonide, (+)-triptophenolide, and (+)-triptoquinonide. *Journal of Organic Chemistry*, 65(7), 2208-2217. doi: 10.1021/jo9919613
6. Corey, E. J., & Dittami, J. P. (1985). Total synthesis of (.+.)-ovalicin. *Journal of the American Chemical Society*, 107(1), 256-257. doi:10.1021/ja00287a049
7. Pillalamarri, V., Arya, T., Haque, N., Bala, S. C., Marapaka, A. K., Addlagatta, A. (2019). Discovery of natural product ovalicin sensitive type 1 methionine aminopeptidases: molecular and structural basis. *Biochemical Journal*, 476(6), 991-1003. doi:10.1042/bcj20180874
8. Rosatella, A. A., & Afonso, C. A. M. (2022). One-Pot Transformation of Salicylaldehydes to Spiroepoxydienones via the Adler–Becker Reaction in a Continuous Flow. *ACS Omega*, 7(14), 11570-11577. doi:10.1021/acsomega.1c05559
9. McLaughlin, M. F., Massolo, E., Liu, S., Johnson, J. S. (2019). Enantioselective Phenolic α -Oxidation Using H₂O₂ via an Unusual Double Dearomatization Mechanism. *Journal of the American Chemical Society*, 141(6), 2645-2651. doi:10.1021/jacs.8b13006
10. Uyanik, M., Yasui, T., & Ishihara, K. (2010). Enantioselective Kita oxidative spirocyclization catalyzed by in situ generated chiral hypervalent iodine(III) species. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(12), 2175-2177. doi:10.1002/anie.200907352
11. Dohi T, Maruyama A, Takenaga N, Senami K, Minamitsuji Y, Fujioka H, Caemmerer SB, Kita Y. (2008). A chiral hypervalent iodine(III) reagent for enantioselective dearomatization of phenols. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(20), 3787-3790. doi:10.1002/anie.200800464
12. Yamashita, D. S., Rocco, V. P., & Danishefsky, S. J. (1991). Enantiomerically homogeneous intermediates toward the synthesis of descarbomoylcalicheamicinone. *Tetrahedron Letters*, 32(46), 6667-6670. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)93570-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)93570-6)

Looking for early indicators of vascular modification in young healthy tobacco smokers

Procura de indicadores precoces de modificação vascular em jovens saudáveis fumadores de tabaco

Sérgio Fallone Andrade   & Luís Monteiro Rodrigues 

Keywords: Cigarette smoking, young healthy smokers, vascular impact, reactive hyperemia (RH), early predictors of vascular modification

Palavras-chave: consumo de cigarros, jovens fumadores saudáveis, impacto vascular, hiperemia reactiva (HR), preditores precoces de modificação vascular

To Cite:

Andrade, S. F. & Monteiro Rodrigues, L. (2024) Looking for early indicators of vascular modification in young healthy tobacco smokers. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 21(1), 15-26.

 [10.19277/bbr.21.1.333](https://doi.org/10.19277/bbr.21.1.333)

CBIOS - Research Center for Biosciences & Health Technologies, Lusófona University, Campo Grande 376, 1749-024 Lisboa, Portugal

Correspondence to / Correspondência a:
sergio.andrade@ulusofona.pt

Received / Recebido: 13/03/2024
Accepted / Aceite: 23/04/2024

Abstract

Cigarette smoking is a main risk factor for cardiovascular disease but early indicators of damage specially in young smokers with no clinical evidence of impairment are lacking. Our study identifies adaptive responses in young smokers following a Reactive Hyperemia (RH) maneuver and compares those responses with an equivalent non-smoker group. The study respected all principles of good clinical practice, involved 42 healthy volunteers (21 smokers, 21 non-smokers), with similar anthropometric data, except for smoking habits. Smokers were mostly (17/21) mild, according with the calculated smoking index, and had followed this regular practice for 11.1 ± 4.5 years. RH was obtained by applying a suprasystolic pressure to one of the participants' arms for two minutes. Perfusion was measured in the third finger on the ipsilateral side. Perfusion early recovery after occlusion was significantly faster in non-smokers ($***p < 0.0001$) compared with smokers. These differences were attributed to smoking, suggesting that even in the absence of any clinical expression, the reflex adaptive responses evoked by RH in both groups are altered. These results justify further studies to better understand the early subclinical impacts of smoking on healthy individuals.

Resumo

O consumo de cigarros é um dos principais factores de risco para as doenças cardiovasculares mas, especialmente em jovens fumadores faltam indicadores precoces de dano na ausência de sinais clínicos de comprometimento. O nosso estudo identifica e compara as respostas adaptativas em jovens fumadores e em não fumadores após uma manobra de Hiperemia Reactiva (HR). O estudo obervou todos os princípios da boa prática clínica, envolvendo 42 voluntários saudáveis (21 fumadores, 21 não fumadores), em tudo semelhantes, exceto no que diz respeito aos hábitos tabágicos. Os fumadores eram maioritariamente (17/21) ligeiros, de acordo com o *smoking index* (índice de tabagismo) calculado, tendo iniciado este consumo regular há $11,1 \pm 4,5$ anos. A HR foi obtida através da aplicação de uma pressão supra-sistólica num dos braços de cada participant durante dois minutos. A perfusão foi medida no terceiro dedo do lado ipsilateral. A recuperação precoce da perfusão após a oclusão foi significativamente mais rápida nos não fumadores ($***p < 0,0001$) em comparação com os fumadores. Estas diferenças foram atribuídas ao tabagismo, sugerindo que, mesmo na ausência de qualquer expressão clínica, as respostas adaptativas reflexas evocadas pela HR em ambos os grupos são alterados. Estes resultados justificam a realização de mais estudos para melhor compreender os impactos subclínicos precoces do tabagismo em indivíduos saudáveis.

Introduction

Tabagism remains the leading risk factor for cardiovascular disease (1). Cigarette smoke contains a complex mix of a wide variety of different components, estimated at more than seven thousand chemical compounds that include more than thirty carcinogens, multiple reactive species (oxygen, nitrogen), and volatile sulfur compounds (2,3). While the correlation between smoking and many other pathological processes such as atherosclerosis is well established, other studies continue to try to better understand the mechanisms involved in its pathogenesis. Nicotine, carbon monoxide, and ROS represent principal roles in the progression of smoking-induced atherosclerosis (4,5) and endothelial dysfunction is one of the most significant detrimental effects of smoking (6). Factors contributing to endothelial dysfunction include reduced bioavailability of nitric oxide, increased levels of superoxide anion, and endothelin release (7,8). Although smoking is recognised as a major risk factor for vascular health being linked to the initial onset of pathophysiological processes known to start in adolescent and young adults (1) there is still lack of measurable early predictors due in part, to a limited understanding of the mechanisms involved.

A practical accessible way to approach *in vivo* microvascular function is Reactive Hyperemia (RH), which includes the Post-Occlusive Reactive Hyperemia (POHR) (9,10). This maneuver typically involves the induction of a temporary ischemia by occlusion of a major vessel such as the brachial artery in the upper limb (11,12). When occlusion ends a measurable period of reactive reperfusion allows the quantitative description of the adaptive response. Some studies suggested that this approach has an interesting prognostic value and could become an outcome measure to assess microcirculatory function (12,13). However, it is not commonly used in the clinical practice.

In the last years, our research group has been dedicated to studying microcirculation physiology and mechanisms involved in RH adaptive response (14–16). Thus, with the goal to better understand the effects of smoking in young healthy populations, the present study was designed to compare the microvascular adaptation and response following the PORH maneuver between healthy young smokers and non-smokers.

Introdução

O tabagismo continua a ser o principal fator de risco para as doenças cardiovasculares (1). O fumo do cigarro contém uma mistura tão vasta quanto complexa de diferentes componentes, estimada em mais de sete mil compostos químicos que incluem mais de trinta carcinogêneos, múltiplas espécies reativas (ER) (oxigênio, azoto) e compostos sulfurados voláteis (2,3). Embora a correlação entre o tabagismo e muitos outros processos patológicos, como a aterosclerose, esteja bem estabelecida, outros estudos continuam a tentar compreender melhor os mecanismos envolvidos na sua patogênese. A nicotina, o monóxido de carbono e as ERs desempenham papéis principais na progressão da aterosclerose induzida pelo tabaco (4,5) e a disfunção endotelial é um dos efeitos prejudiciais mais significativos do tabaco (6). Os factores que contribuem para a disfunção endotelial incluem a redução da biodisponibilidade do óxido nítrico, o aumento dos níveis de anião superóxido e a libertação de endotelina (7,8). Embora o tabagismo seja reconhecido como um importante fator de risco para a saúde vascular, estando ligado ao início de processos fisiopatológicos que se sabe começarem na adolescência e nos jovens adultos (1), ainda não existem indicadores precoces mensuráveis devido, em parte, a uma compreensão limitada dos mecanismos envolvidos.

Uma forma prática e acessível de abordar a função microvascular *in vivo* é através da Hiperemia Reactiva (HR), que inclui a Hiperemia Reactiva Pós-Oclusiva (HRPO) (9,10). Esta manobra envolve tipicamente a indução de uma isquemia temporária através da oclusão de um vaso principal como a artéria braquial no membro superior (11,12). Quando a oclusão termina, um período mensurável de reperusão reactiva permite a descrição quantitativa da resposta adaptativa. Alguns estudos sugerem que esta abordagem tem um valor prognóstico interessante e pode tornar-se uma medida de resultado para avaliar a função microcirculatória (12,13). No entanto, não é comumente utilizada na prática clínica.

Nos últimos anos, o nosso grupo de investigação tem-se dedicado ao estudo da fisiologia da microcirculação e dos mecanismos envolvidos na resposta adaptativa da HR (14-16). Assim, com o objetivo de melhor compreender os efeitos do tabagismo em populações jovens e saudáveis, o presente estudo foi concebido para comparar a adaptação e resposta microvascular após a manobra de HRPO entre jovens saudáveis fumadores e não fumadores.

Material and Methods

Volunteers

A convenience sample of 42 healthy volunteers (21 smokers; 21 non-smokers) of both sexes, selected from the university community (Lusófona University), were included in the study following specific inclusion /non-inclusion criteria adapted for these types of studies (16).

All study participants were normotensive and exhibited no signs of vascular dysfunction, as assessed by the ankle-brachial index (ABI) (17). They also reported similar levels of physical activity. None of the participants were on regular medication or dietary supplements, and they were instructed to refrain from consuming caffeinated or other vasoactive beverages for 24 hours before the experiments. The definition of smoker involved the daily consumption of at least ten cigarettes and a confirmed self-reported consumption habit for at least three years. We also calculated the smoking index to better characterize our smokers (18). This descriptor was obtained by multiplying the number of cigarettes smoked per day by the number of years of smoking and considers three categories of smokers - mild (smoking index ≤ 200), moderate ($200 < \text{smoking index} < 400$), and severe smoking (smoking index ≥ 400). The general characteristics of participants are summarized in Table 1.

All procedures respected the principles of good clinical practice stated in the Declaration of Helsinki and its subsequent amendments (19). Written informed consent was received from all subjects involved in the study, while the experimental protocol was previously approved by the Ethics Committee of the School of Health Sciences and Technologies, Lusófona University (CE.ECTS/P05-21).

Experimental

Volunteers were allowed to adapt to the laboratory temperature, humidity, and light for 20–30 minutes before measurement. LDF sensors were applied in the ipsilateral hand (ventral face of ring finger) to register perfusion. LDF signal, expressed in arbitrary Perfusion Units (PUs), was obtained with a Perimed PF5010 system (Perimed, Järfälla, Sweden), which also continuously monitored skin surface temperature (PF 5020 Temp Unit).

Material e métodos

Voluntários

Foi incluída no estudo uma amostra de conveniência de 42 voluntários saudáveis (21 fumadores; 21 não fumadores), de ambos os sexos, seleccionados na comunidade universitária (Universidade Lusófona), seguindo critérios de inclusão/não inclusão específicos adaptados a este tipo de estudos (16).

Todos os participantes do estudo eram normotensos e não apresentavam sinais de disfunção vascular, conforme avaliado pelo índice tornozelo-braço (ITB) (17). Também relataram níveis semelhantes de actividade física. Nenhum dos participantes tomava medicação regular ou suplementos alimentares, sendo instruídos a não consumir bebidas com cafeína ou outras bebidas vasoactivas nas 24 horas antes das experiências. A definição de fumador envolveu o consumo diário de pelo menos dez cigarros e um hábito de consumo auto-relatado confirmado durante pelo menos três anos. Calculámos também o índice de tabagismo para melhor caracterizar os fumadores (18). Este descritor foi obtido multiplicando o número de cigarros fumados por dia pelo número de anos de tabagismo, e considera três categorias de fumadores - fumadores ligeiros (índice de fumadores ≤ 200), moderados ($200 < \text{índice de fumadores} < 400$) e fumadores graves (índice de fumadores ≥ 400). As características gerais dos participantes estão resumidas na Tabela 1.

Todos os procedimentos respeitaram os princípios de boas práticas clínicas estabelecidos na Declaração de Helsínquia e suas alterações subsequentes (19). Foi obtido o consentimento informado por escrito de todos os sujeitos envolvidos no estudo, tendo o protocolo experimental sido previamente aprovado pela Comissão de Ética da Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde da Universidade Lusófona (CE.ECTS/P05-21).

Experimental

Os voluntários passaram por um período de adaptação à temperatura, humidade e luz do laboratório durante 20-30 minutos antes das medições. Foram aplicados sensores de LDF na mão ipsilateral (face ventral do dedo anelar) para registar a perfusão. O sinal LDF, expresso em Unidades de Perfusão (UPs) arbitrárias, foi obtido com um sistema Perimed PF5010 (Perimed, Järfälla, Suécia), que também monitorizou continuamente a temperatura da superfície da pele (PF 5020 Temp Unit).

Table 1 - Volunteers' general characteristics.
Tabela 1 - Características gerais dos voluntários.

	Total Population / População Total (n=42)	Smoker / Fumador (n=21)	Non-Smoker / Não-fumador (n=21)	p-value / Valor de p
Sex, % (n) / Sexo, % (n)				
Women / Mulheres	64.3 (27)	67.0 (14)	62.0 (13)	0.370
Men / Homens	35.7 (15)	33.0 (7)	38.0 (8)	
Age, years / Idade, anos	30.4 ± 11.5	30.1 ± 9.0	26.4 ± 8.2	0.169
Body Mass, kg / Massa Corporal, kg	66.0 ± 14.5	71.0 ± 16.7	63.0 ± 10.3	0.069
Height, m / Altura, m	1.69 ± 0.08	1.67 ± 0.08	1.67 ± 0.09	0.453
BMI, kg/m ² / IMC, kg/m ²	23.2 ± 3.9	24.1 ± 4.3	22.1 ± 2.5	0.372
SystP, mmHg / PSist mmHg	122 ± 15	125 ± 16	118 ± 20	0.341
DiasP, mmHg / PDias mmHg	76 ± 10	83 ± 8	79 ± 7	0.489
MAP (mmHg) / PAM (mmHg)	90 ± 9	95 ± 10	91 ± 8	0.527
ABI / ITB	1.11 ± 0.07	1.12 ± 0.09	1.09 ± 0.07	0.567
Physical Activity (h/week) / Actividade Física (h/semana)	2.03 ± 0.71	1.95 ± 0.66	2.05 ± 0.73	0.440
Smoker (years) / Fumadores (anos)	-	11.1 ± 4.5	0.0 ± 0.0	-
Cigarette consumption per day / Consumo de cigarros diárias	-	13.1 ± 3.7	0.0 ± 0.0	-
Smoking index / Índice de tabagismo				
Mild smoking (n; Index)/ Fumador ligeiro (n; Índice)		17; 116.5 ± 38.7	-	-
Moderate smoking (n; Index) / Fumador moderado (n; Índice)		4; 276.3 ± 46.4	-	-
Severe smoking / Fumador severo (n; Índice)		0; 0.0	-	-

Data expressed as mean ± Standard Deviation (SD) or % (n) for continuous variables or categorical variables, respectively. Significance level $p < 0.05$. Student's t-test was used for comparisons between Smoker and Non-smoker groups. BMI, Body Mass Index; SYSTP, Systolic pressure; DIASP, Diastolic Pressure; ABI, Ankle-Brachial Index; MAP, Medium Arterial Pressure / Dados expressos como média ± desvio-padrão (DP) ou % (n) para variáveis contínuas ou variáveis categóricas, respetivamente. Nível de significância $p < 0,05$. O teste t de Student foi utilizado para comparações entre os grupos de fumadores e não fumadores. IMC, Índice de Massa Corporal; PSist, Pressão Sistólica; PDias, Pressão Diastólica; ITB, Índice Tornozelo-Braquial; PAM, Pressão Arterial Média.

The protocol included three phases - a baseline resting register (Phase I) ceasing with stabilization of the variable, followed by a challenge period (Phase II) involving two-minute occlusion as part of the PORH maneuver, followed by a ten-minute recovery period (Phase III). PORH was performed on one randomly chosen upper limb in each participant, using a cuff applied in the middle arm, near the elbow flexor area. After baseline acquisition, the cuff was rapidly inflated with 200 mmHg to occlude the brachial artery. This pressure was maintained for two minutes to ensure hemodynamical stabilization in the area (Figure 1). Then the cuff was rapidly deflated and perfusion recorded.

O protocolo incluiu três fases - um registo de repouso basal (Fase I) que cessou com a estabilização da variável, seguido de um período de desafio (Fase II) envolvendo dois minutos de oclusão como parte da manobra HRPO, seguido de um período de recuperação de dez minutos (Fase III). A HRPO foi realizada num membro superior escolhido aleatoriamente em cada participante, utilizando uma manga insuflável aplicada no braço médio, próximo à área flexora do cotovelo. Após a aquisição da linha de base, a manga foi rapidamente insuflada com 200 mmHg para ocluir a artéria braquial. Essa pressão foi mantida por dois minutos para garantir a estabilização hemodinâmica da área (Figura 1). Em seguida, a manga foi rapidamente esvaziada mantendo o registo contínuo de perfusão.

Blood pressure was measured with a Sphygmomanometer (Ortomed, Viseu, Portugal) by which Mean Arterial Pressure (MAP) was calculated as:

$$\text{MAP} = \text{DP} + 1/3 (\text{SP} - \text{DP})$$

where DP is the diastolic blood pressure, SP is the systolic blood pressure (20).

Statistical Analysis

Anthropometric data were presented as mean \pm standard deviation (SD). The microcirculation response after the PORH maneuver was expressed as a percentage of perfusion change between Phase I (Baseline) and Phase II (challenge) and between Phase I and Phase III (recovery). Within this phase early recovery, corresponding to first three minutes after Phase II and late recovery, corresponding to last three minutes after the end of this period, were calculated. The Kolmogorov-Smirnov normality test was applied to verify data normality. For comparisons between variables, we used the unpaired Student's t-test and one-way ANOVA for repeated measures followed by the Tukey's post hoc test. Statistical analysis was conducted using Jamovi® (Version 2.2, the Jamovi Project, Sydney, Australia), and GraphPad® prism 8 (San Diego, CA, USA) with significance set at $p < 0.05$.

A pressão arterial foi medida com um esfigmomanómetro (Ortomed, Viseu, Portugal), sendo a pressão arterial média (PAM) calculada da seguinte forma:

$$\text{PAM} = \text{PD} + 1/3 (\text{PS} - \text{PD})$$

em que PD é a pressão diastólica e PS é a pressão sistólica (20).

Análise estatística

Os dados antropométricos foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP). A resposta da microcirculação após a manobra de HRPO foi expressa em percentagem de alteração da perfusão entre a Fase I (basal) e a Fase II (desafio), e entre Fase I e a Fase III (recuperação). Dentro desta fase foram calculadas a recuperação precoce, correspondente aos primeiros três minutos após a Fase II e a recuperação tardia, correspondente aos últimos três minutos após o término deste período. Para verificar a normalidade dos dados foi aplicado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Para comparações entre variáveis foi utilizado o teste t de Student não pareado e ANOVA one-way para medidas repetidas seguido do teste post hoc de Tukey. A análise estatística foi realizada com Jamovi® (Versão 2.2, Projeto Jamovi, Sydney, Austrália) e o GraphPad® prism 8 (San Diego, CA, EUA), com significância estabelecida em $p < 0,05$.

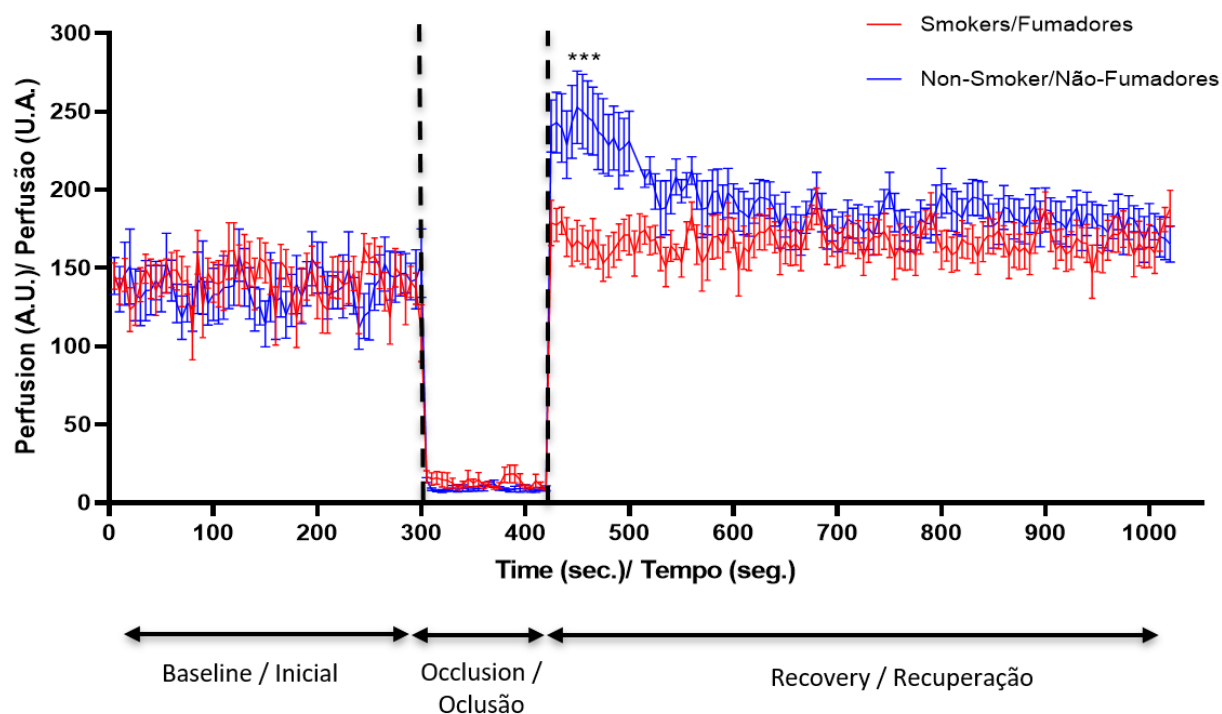


Figure 1 - Real time register of all LDF perfusion changes (both groups) during the complete experimental protocol.

Figura 1 – Registo em tempo real de todas as alterações de perfusão medidas pelo do LDF (ambos os grupos) durante todo o protocolo experimental.

Results

Our sample included 64.3% women and 35.7% men similarly represented in both smoker and non-smokers groups. No statistical differences were observed between the groups regarding age, body mass, height, the Body Mass Index (BMI), the Ankle-Brachial Index (ABI), physical activity, and blood pressure, confirming that with the exception of the smoking habit, both groups were equivalent. The smokers had begun consuming (mean) 11.1 ± 4.5 years prior to this study and, according to the smoking index classification, were mostly mild to moderate consumers (13.2 ± 3.7 cigarettes per day).

Baseline (Phase I) and challenge (Phase II) registers were equivalent in both groups. However, analyses of adaptation and recovery in Phase III (recovery after occlusion) revealed a significant ($***p < 0.0001$) higher early response (first three minutes) in the non-smoking group compared to the smoking group; with perfusion value $64.0\% \pm 13.8$ higher when compared to phase I, while in the smoking group, perfusion increased only $21.2\% \pm 9.2$, in the same conditions. In the last recovery period, both groups showed similar perfusion changes ($13.2\% \pm 3.5$ and $12.6\% \pm 2.7$ for smokers and non-smokers respectively (Table 2 and Figure 2).

Discussion

Skin microcirculation is an interesting window for the non-invasive, real-time assessment of vascular physiology and has been used to obtain various quantitative markers of cardiovascular function (11,21). In the present study, we investigate the distal effects of smoking on young healthy human skin perfusion after PORH. The main intention is to know more about the impact of the regular consumption of smoking tobacco in young people, especially when there is no evidence of any clinical compromise, to identify early measurable outcomes acting as predictors of vascular impairment.

Young smokers have been reported to likely show an aggravated health condition and risk calculation for several cardiovascular and respiratory diseases (22). Young smokers have been associated with shortness of breath, coughing, and wheezing when compared with non-smokers (22,23). Regarding cardiac function, only a few reports suggested a connection between early age smoking and a decline of cardiac function (22,24). A strong link to the development of atherosclerosis is established (22–24) and a recent

Resultados

A nossa amostra incluiu 64,3% de mulheres e 35,7% de homens, representados de forma semelhante nos grupos de fumadores e não fumadores. Não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos relativamente à idade, massa corporal, altura, Índice de Massa Corporal (IMC), Índice Tornozelo-Braço (ITB), atividade física e pressão arterial, confirmando que, à exceção do hábito tabágico, ambos os grupos eram equivalentes. Todos os fumadores iniciaram o consumo (em média) há $11,1 \pm 4,5$ anos e, de acordo com a classificação do índice de tabagismo, eram maioritariamente consumidores ligeiros a moderados ($13,2 \pm 3,7$ cigarros por dia).

Os registos da linha de base (Fase I) e do desafio (Fase II) foram equivalentes em ambos os grupos. No entanto, a análise da adaptação e recuperação na Fase III (recuperação após oclusão) revelou uma resposta precoce (primeiros três minutos) significativamente ($***p < 0,0001$) superior no grupo não-fumador em relação ao grupo fumador, com um valor de perfusão $64,0\% \pm 13,8$ superior em relação à fase I, enquanto no grupo fumador a perfusão aumentou apenas $21,2\% \pm 9,2$, nas mesmas condições. No último período de recuperação, ambos os grupos apresentaram alterações perfusionais semelhantes ($13,2\% \pm 3,5$ e $12,6\% \pm 2,7$ para fumadores e não fumadores, respetivamente (Tabela 2 e Figura 2).

Discussão

A microcirculação cutânea é uma janela interessante para a avaliação não invasiva e em tempo real da fisiologia vascular e tem sido utilizada para obter vários marcadores quantitativos da função cardiovascular (11,21). No presente estudo, investigámos os efeitos distais do tabagismo na perfusão da pele de jovens saudáveis e activos após a HRPO. O objectivo principal é saber mais sobre o impacto do consumo regular de tabaco em jovens, especialmente quando não há evidências de qualquer compromisso clínico, para identificar resultados mensuráveis precoces que actuem como preditores de comprometimento vascular.

Sabemos que os jovens fumadores apresentam provavelmente um estado de saúde menos favorável sobretudo em termos do cálculo de risco para várias doenças cardiovasculares e respiratórias (22). A falta de ar, tosse e pieira têm sido mais associadas a jovens fumadores quando comparados com não fumadores (22,23). Relativamente à função cardíaca,

Table 2 - Laser Doppler perfusion changes expressed in arbitrary Perfusion Units (PUs) obtained during Phase I (baseline) and Phase II (challenge with cuff) and Phase III (recovery) of the experimental protocol in both groups.

Tabela 2 - Alterações perfusionais medidas com Laser Doppler expressas em Unidades de Perfusão arbitrárias (UAs) obtidas durante a Fase I (basal), Fase II (desafio com manguito) e Fase III (recuperação) do protocolo experimental em ambos os grupos.

	Total Population / População Total (n=42)	Smoker / Fumador (n=21)	Non-Smoker / Não-fumador (n=21)	p-value / Valor de p
Phase I / Fase I	139.1 ± 36.6	141.2 ± 30.8	137.0 ± 48.4	0.999
Phase II / Fase II	12.1 ± 4.3	11.1 ± 3.4	13.1 ± 7.3	0.996
Phase III (early) / Fase III (precoce)	199.3 ± 31.2	231.6 ± 40.5	167.14 ± 25.5	0.0001***
Phase III (late) / Fase III (tardia)		159.83 ± 22.1	149.6 ± 20.4	0.745

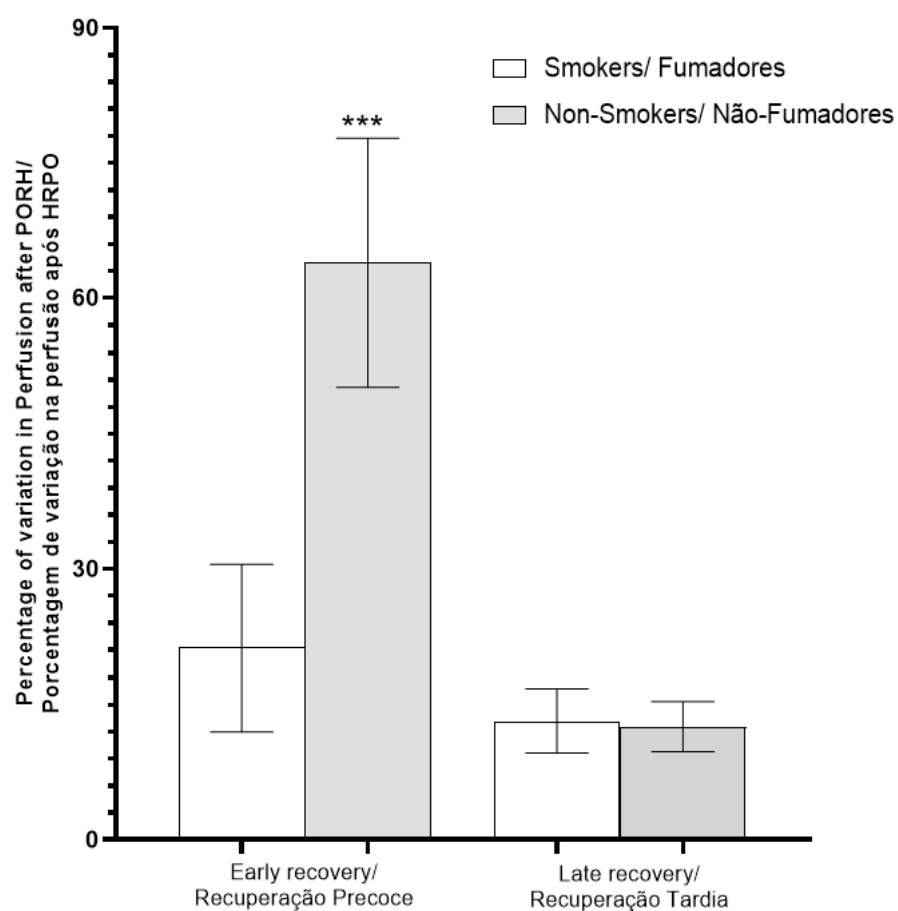


Figure 2 - Comparing perfusion responses between healthy smokers and non-smokers after Post Occlusive reactive Hyperemia during Phase III (early and late recovery periods). Data expressed as mean ± Standard Deviation (SD) (see text). (***)p<0.0001

Figura 2 - Comparação das respostas de perfusão entre fumadores saudáveis e não fumadores após hiperemia reactiva pós-oclusiva durante Fase III (períodos de recuperação precoce e tardia). Dados expressos como média ± desvio padrão (DP) (ver texto). (***)p<0.0001).

metanalysis has clearly demonstrated that smoking at early ages is strongly associated with the risk of future cardiovascular events (25,26). Significantly higher arterial stiffness was found in young smokers when compared with equivalent age non-smokers (27). It is known that products from tobacco smoking interfere with multiple processes, namely endothelial function, platelet aggregation and adhesiveness, and autonomic traffic. All of these processes and their alteration may contribute to these observed effects (28,29). Related DNA methylation changes in young adults might be associated with changes in sub-clinical markers of cardiovascular health (30).

RH and PORH are classical experimental methodologies with limited use in clinical research and practice (31). Main difficulties arise with the lack of standardization respecting the time of occlusion, measurement technologies and outcomes and site equivalence. Naturally, these factors challenge comparison of results. Additionally, and importantly, those mechanisms suggested to explain the RH response are still controversial. The activation of sensory nerves through the neural axon reflex, metabolic and myogenic components, and the production of endothelium-dependent vasodilators have been referred as part of a complex local response following RH (32). The endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) has been proposed as an important mediator (33), while the contribution of prostaglandins remains uncertain (34,35), while Nitric Oxide (NO) seems not to play a key role in this response (36,37). However, our studies clearly demonstrated that (a) the local response is only part of the reflex elicited by the PORH (15,16,38), (b) that RH is not initiated by ischemia but rather by any modification of local perfusion involving both skin plexus, whatever the origin of the stimulus involved (increase or reduction by mechanical, or neuro-humoral challenge) (15,38–40), and (c) the RH generated reflex is kept to preserve global hemodynamics (15,38,40–45). Our approach clearly characterized both groups only distinctive by the smoking habit (mild and moderate, according to the smoking index), as no other obvious physiological differences are present between both groups at rest and under occlusion. However, after PORH,

apenas alguns relatos sugerem uma ligação entre o tabagismo em idade precoce e declínio da função cardíaca (22,24). Existe uma forte evidência de relação entre tabagismo e aterosclerose (22–24) tendo sido claramente demonstrado através de metanálise que o tabagismo em idades precoces está fortemente associado ao aumento precoce do risco de futuros eventos cardiovasculares (25,26). A rigidez arterial foi considerada significativamente mais elevada em jovens fumadores quando comparados com não fumadores de idade equivalente (27). Sabemos que os produtos do tabaco interferem com múltiplos processos, nomeadamente com a função endotelial, a agregação e adesividade plaquetárias e a função autonómica. Todos estes processos e a sua alteração podem contribuir para estes efeitos observados (28,29). Mesmo nos jovens, a metilação do DNA pode estar na origem da alterações nos marcadores subclínicos de saúde cardiovascular (30).

A HR e a HRPO são metodologias experimentais clássicas mas com utilização limitada na prática clínicas (31). As principais dificuldades prendem-se com a falta de normalização relativamente ao tempo de oclusão, tecnologias de medição, equivalência de locais anatomicos onde a HR é realizada e, comparação de resultados, naturalmente, difíceis de comparar nestas condições. Além disso, e igualmente importante, os mecanismos sugeridos para explicar a resposta da HR ainda não reúnem consenso. A ativação dos nervos sensoriais através do reflexo do axoneural, os componentes metabólicos e miogénicos e a produção de vasodilatadores dependentes do endotélio têm sido referidos como parte de uma resposta local complexa após a HR (32). O fator hiperpolarizante derivado do endotélio (FHDE) tem sido proposto como um mediador importante (33), enquanto a contribuição das prostaglandinas permanece incerta (34,35). Por seu lado, o óxido nítrico (ON) parece não desempenhar um papel fundamental nesta resposta (36,37). No entanto, os nossos estudos demonstraram claramente que (a) a resposta local é apenas uma parte do reflexo desencadeado pela HRPO (15,16,38), (b) que a HR não é iniciada por isquemia, mas sim por qualquer modificação da perfusão local envolvendo ambos os plexos cutâneos, qualquer que seja a origem do estímulo que a provocou (aumento ou redução por desafio mecânico ou neuro-humoral) (15,38-40), e (c) o reflexo gerado pela HR é mantido para preservar a hemodinâmica global (15,38,40-45). A nossa abordagem distinguiu claramente os dois grupos apenas pelo hábito de fumar (ligeiro e moderado, de acordo com o índice de tabagismo), uma vez que não existem outras diferenças fisiológicas óbvias entre os dois grupos em repouso e

immediate recovery is significantly faster in the non-smoker group. The differences that we observed can only be attributed to tabagism, which might signify that the reflexes emerging from the RH, involving both afferent and efferent pathways and adaptive effector responses, are already dramatically different in the smoker group, even in the absence of any clinical expression and apparently involve more than just the microcirculatory unit.

The present study is exploratory and limited by several experimental constraints, such as the reduced number of participants, the absence of related hemodynamical information before and after PORH, and measurements of the contralateral limb. Nevertheless, these findings are compelling and justify further studies to better understand the early subclinical smoking impacts on healthy individuals.

Author contributions

S.F.A. performed the experimental investigation, statistical analysis, organized databases, and wrote the manuscript. L.M.R. was responsible for the concept and design of the study, writing and revising the manuscript's final version. The authors approved the final submitted version.

sob oclusão. No entanto, após a HRPO, a recuperação imediata é significativamente mais rápida no grupo de não fumadores. Estas diferenças que observámos só podem ser atribuídas ao tabagismo, o que pode significar que, mesmo na ausência de qualquer expressão clínica, os reflexos que emergem da HR, envolvendo vias aferentes e eferentes e respostas efectoras adaptativas no grupo de fumadores, já são dramaticamente diferentes. Aparentemente, envolvendo mais do que apenas a unidade microcirculatória.

O presente estudo é exploratório e limitado por várias restrições experimentais como o reduzido número de participantes, a falta de variáveis que informem sobre as variações da hemodinâmica antes e depois da HRPO, e medições do membro contralateral. No entanto, estes resultados são convincente e justificam a realização de mais estudos para compreender melhor os impactos subclínicos precoces do tabagismo em indivíduos saudáveis.

Contribuição dos autores

S.F.A. realizou a investigação experimental, a análise estatística, organizou as bases de dados e redigiu o manuscrito. L.M.R. foi responsável pela conceção e delineamento do estudo, redação e revisão da versão final do manuscrito. Os autores aprovaram a versão final submetida.

Funding

The funding for this research was provided by national funds through the Foundation for Science and Technology, I.P. (Portugal), specifically under the projects with DOIs 10.54499/UIDP/04567/2020 and 10.54499/UIDB/04567/2020, as well as by COFAC/ILIND—Cooperativa De Formação e Animação Cultural CRL/Instituto Lusófono de Investigação e Desenvolvimento through grant COFAC/ILIND/CBIOS/2/2021.

Acknowledgements

The authors would like to express their thanks to all participants in the study.

Conflict of interest

The editors involved in this manuscript's authorship had no participation in the review or decision process. Both authors have stated that there are no financial and/or personal relationships that could represent a potential conflict of interest.

Financiamento

O financiamento desta investigação foi assegurado por fundos nacionais através da Fundação para a Ciência e a Tecnologia, Portugal, especificamente no âmbito dos projectos com os DOIs 10.54499/UIDP/04567/2020 e 10.54499/UIDB/04567/2020, bem como pela COFAC/ILIND-Cooperativa De Formação e Animação Cultural CRL/Instituto Lusófono de Investigação e Desenvolvimento através do subsídio COFAC/ILIND/CBIOS/2/2021.

Agradecimentos

Os autores gostariam de expressar o seu agradecimento a todos os participantes.

Conflito de interesses

Os editores envolvidos na autoria desses manuscritos não tiveram participação no processo de revisão ou decisão. Ambos os autores declararam que não existem relações financeiras e/ou pessoais que possam representar um potencial conflito de interesses.

References / Referências

1. Gallucci, G., Tartarone, A., Lerose, R., Lalinga, A. V., & Capobianco, A. M. (2020). Cardiovascular risk of smoking and benefits of smoking cessation. *Journal of Thoracic Disease, 12*(7), 3866–3876. <https://doi.org/10.21037/jtd.2020.02.47>
2. Csordas, A., & Bernhard, D. (2013). The biology behind the atherothrombotic effects of cigarette smoke. *Nature Reviews Cardiology, 10*(4), 219–230. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2013.8>
3. Soleimani, F., Dobaradaran, S., De-la-Torre, G. E., Schmidt, T. C., & Saedi, R. (2022). Content of toxic components of cigarette, cigarette smoke vs cigarette butts: A comprehensive systematic review. *Science of The Total Environment, 813*, 152667. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152667>
4. Cha, S.-R., Jang, J., Park, S.-M., Ryu, S. M., Cho, S.-J., & Yang, S.-R. (2023). Cigarette Smoke-Induced Respiratory Response: Insights into Cellular Processes and Biomarkers. *Antioxidants, 12*(6), 1210. <https://doi.org/10.3390/antiox12061210>
5. Ishida, M., Sakai, C., Kobayashi, Y., & Ishida, T. (2024). Cigarette Smoking and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis, 31*(3), 189–200. <https://doi.org/10.5551/jat.RV22015>
6. Delgado, G. E., Krämer, B. K., Siekmeier, R., Yazdani, B., März, W., Leipe, J., & Kleber, M. E. (2020). Influence of smoking and smoking cessation on biomarkers of endothelial function and their association with mortality. *Atherosclerosis, 292*, 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2019.11.017>
7. Higashi, Y. (2023). Smoking cessation and vascular endothelial function. *Hypertension Research, 46*(12), 2670–2678. <https://doi.org/10.1038/s41440-023-01455-z>
8. Hahad, O., Kuntic, M., Kuntic, I., Daiber, A., & Münzel, T. (2023). Tobacco smoking and vascular biology and function: Evidence from human studies. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology, 475*(7), 797–805. <https://doi.org/10.1007/s00424-023-02805-z>
9. Philpott, A., & Anderson, T. J. (2007). Reactive Hyperemia and Cardiovascular Risk. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 27*(10), 2065–2067. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.149740>
10. Paine, N. J., Hinderliter, A. L., Blumenthal, J. A., Adams, K. F., Sueta, C. A., Chang, P. P., O'Connor, C. M., & Sherwood, A. (2016). Reactive hyperemia is associated with adverse clinical outcomes in heart failure. *American Heart Journal, 178*, 108–114. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2016.05.008>
11. Roustit, M., & Cracowski, J. (2012). Non-invasive Assessment of Skin Microvascular Function in Humans: An Insight into Methods. *Microcirculation, 19*(1), 47–64. <https://doi.org/10.1111/j.1549-8719.2011.00129.x>
12. Rosenberry, R., & Nelson, M. D. (2020). Reactive hyperemia: A review of methods, mechanisms, and considerations. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 318*(3), R605–R618. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00339.2019>
13. Shirazi, B. R., Valentine, R. J., & Lang, J. A. (2021). Reproducibility and normalization of reactive hyperemia using laser speckle contrast imaging. *Plos One, 16*(1), e0244795. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244795>
14. Monteiro Rodrigues, L., Rocha, C., Gregorio, J., Florindo, M., Granja, T., & Andrade, S. (2023). Acute adaptation of skin microcirculatory perfusion does not involve local responses. *Physiology, 38*(S1), 5789986. <https://doi.org/10.1152/physiol.2023.38.S1.5789986>
15. Faloni De Andrade, S., Granja, T., & Monteiro Rodrigues, L. (2023). Comparative view of reactive hyperemia perfusion changes in the upper-limb by laser Doppler flowmetry and optoacoustic tomography and meta-analysis: Comparação das alterações de perfusão após hiperémia reactiva no membro superior avaliadas por Fluxometria de Laser Doppler e por Tomografia Fotoacústica. *Biomedical and Biopharmaceutical Research, 20*(1), 1–10. <https://doi.org/10.19277/bbr.20.1.304>
16. Monteiro Rodrigues, L., Rocha, C., Ferreira, H. T., & Silva, H. N. (2020). Lower limb massage in humans increases local perfusion and impacts systemic hemodynamics. *Journal of Applied Physiology, 128*(5), 1217–1226. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00437.2019>
17. Aboyans, V., Criqui, M. H., Abraham, P., Allison, M. A., Creager, M. A., Diehm, C., Fowkes, F. G. R., Hiatt, W. R., Jönsson, B., Lacroix, P., Marin, B., McDermott, M. M., Norgren, L., Pande, R. L., Preux, P.-M., Stoffers, H. E. (Jelle), & Treat-Jacobson, D. (2012). Measurement and Interpretation of the Ankle-Brachial Index: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation, 126*(24), 2890–2909. <https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e318276fbc8>
18. Leffondré, K., Abrahamowicz, M., Xiao, Y., & Siemiatycki, J. (2006). Modelling smoking history using a comprehensive smoking index: Application to lung cancer. *Statistics in Medicine, 25*(24), 4132–4146. <https://doi.org/10.1002/sim.2680>
19. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. (2013). *JAMA, 310*(20), 2191. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>
20. DeMers, D., & Wachs, D. (2024). Physiology, Mean Arterial Pressure. In StatPearls. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538226/>
21. Anyfanti, P., Angeloudi, E., Dara, A., Arvanitaki, A., Bekiari, E., Kitas, G. D., & Dimitroulas, T. (2022). Nailfold Videocapillaroscopy for the Evaluation of Peripheral Microangiopathy in Rheumatoid Arthritis. *Life, 12*(8), 1167. <https://doi.org/10.3390/life12081167>
22. Winnall, WR, Letcher, T, Greenhalgh, EM, & Winstanley, MH. (2021). Health effects for young people who smoke. In Tobacco in Australia: Facts and issues. <https://www.tobaccoinaustralia.org.au/chapter-3-health-effects/3-21-health-effects-for-younger-smokers>
23. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (US) Office on Smoking and Health. (n.d.). Preventing Tobacco Use Among Youth and Young Adults: A Report of the Surgeon General. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK99237/>
24. Batista, A. N. R., Garcia, T., Franco, E. A. T., Azevedo, P. S., Barbosa, M. F., Zornoff, L. A. M., Minicucci, M. F., De Paiva, S. A. R., Zucchi, J. W., De Godoy, I., & Tanni, S. E. (2020). Comparison of morphometry and ventricular function of healthy and smoking young people. *BMC Cardiovascular Disorders, 20*(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s12872-020-01372-w>
25. Georgiopoulos, G., Oikonomou, D., Pateras, K., Masi, S., Magkas, N., Delialis, D., Ajdini, E., Vlachou, V., Stamatielopoulos, K., & Charakida, M. (2021). A Bayesian meta-analysis on early tobacco exposure and vascular health: From childhood to early adulthood. *European Journal of Preventive Cardiology, 28*(12), 1315–1322. <https://doi.org/10.1177/2047487319883557>
26. Gossios, T. D. (2021). Smoking in childhood and early adolescence: A case of the early bird not catching the worm. *European Journal of Preventive Cardiology, 28*(14), e1–e2. <https://doi.org/10.1177/2047487319884372>
27. Binder, S., Navratil, K., & Halek, J. (2008). Chronic smoking and its effect on arterial stiffness. *Biomedical Papers, 152*(2), 299–302. <https://doi.org/10.5507/bp.2008.047>
28. Henriksson, P., Lu, Q., Diczfalusy, U., & Freyschuss, A. (2014). Immediate Effect of Passive Smoking on Microcirculatory Flow. *Microcirculation, 21*(7), 587–592. <https://doi.org/10.1111/micc.12137>

29. Leone, A., & Landini, L. (2013). Vascular Pathology from Smoking: Look at the Microcirculation. *Current Vascular Pharmacology*, 11(4), 524–530. <https://doi.org/10.2174/157016111311040016>
30. Sabogal, C., Su, S., Tingen, M., Kapuku, G., & Wang, X. (2020). Cigarette smoking related DNA methylation in peripheral leukocytes and cardiovascular risk in young adults. *International Journal of Cardiology*, 306, 203–205. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2019.11.103>
31. Roustit, M., Blaise, S., Millet, C., & Cracowski, J. L. (2010). Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvascular Research*, 79(2), 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2010.01.001>
32. Maniewski, R. (2014). Prolonged Postocclusive Hyperemia Response in Patients with Normal-Tension Glaucoma. *Medical Science Monitor*, 20, 2607–2616. <https://doi.org/10.12659/MSM.891069>
33. Lorenzo, S., & Minson, C. T. (2007). Human cutaneous reactive hyperaemia: Role of BK Ca channels and sensory nerves. *The Journal of Physiology*, 585(1), 295–303. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.143867>
34. Medow, M. S., Taneja, I., & Stewart, J. M. (2007). Cyclooxygenase and nitric oxide synthase dependence of cutaneous reactive hyperemia in humans. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 293(1), H425–H432. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01217.2006>
35. Dalle-Ave, A., Kubli, S., Golay, S., Delachaux, A., Liaudet, L., Waeber, B., & Feihl, F. (2004). Acetylcholine-Induced Vasodilation and Reactive Hyperemia Are Not Affected by Acute Cyclo-Oxygenase Inhibition in Human Skin. *Microcirculation*, 11(4), 327–336. <https://doi.org/10.1080/10739680490449268>
36. Zhao, J. L., Pergola, P. E., Roman, L. J., & Kellogg, D. L. (2004). Bioactive nitric oxide concentration does not increase during reactive hyperemia in human skin. *Journal of Applied Physiology*, 96(2), 628–632. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00639.2003>
37. Wong, B. J., Wilkins, B. W., Holowatz, L. A., & Minson, C. T. (2003). Nitric oxide synthase inhibition does not alter the reactive hyperemic response in the cutaneous circulation. *Journal of Applied Physiology*, 95(2), 504–510. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00254.2003>
38. Monteiro Rodrigues, L., Granja, T. F., & De Andrade, S. F. (2022). Optoacoustic Imaging Offers New Insights into In Vivo Human Skin Vascular Physiology. *Life*, 12(10), 1628. <https://doi.org/10.3390/life12101628>
39. Florindo, M., Gregório, J., & Monteiro Rodrigues, L. (2022). Short duration – low intensity isometric plantar flexion increases distal perfusion: Observations from a healthy cohort. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 19(1), 58–71. <https://doi.org/10.19277/bbr.19.1.286>
40. Nuno, S., Florindo, M., Silva, H., & Monteiro Rodrigues, L. (2020). Studying the impact of different body positioning, squatting, and unipodal flexion on perfusion in the lower limb – an exploratory approach complemented with optical spectroscopy (TiVi). *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 17(2), 1–10. <https://doi.org/10.19277/bbr.17.2.235>
41. Florindo, M., Nuno, S. L., & Rodrigues, L. M. (2022). Lower Limb Dynamic Activity Significantly Reduces Foot Skin Perfusion: Exploring Data with Different Optical Sensors in Age-Grouped Healthy Adults. *Skin Pharmacology and Physiology*, 35(1), 13–22. <https://doi.org/10.1159/000517906>
42. Florindo, M., Gregório, J., & Rodrigues, L. M. (2024). Lower-Limb Perfusion and Cardiovascular Physiology Are Significantly Improved in Non-Healthy Aged Adults by Regular Home-Based Physical Activities—An Exploratory Study. *Life*, 14(2), 241. <https://doi.org/10.3390/life14020241>
43. Monteiro Rodrigues, L., Rocha, C., Andrade, S., Granja, T., & Gregório, J. (2023). The acute adaptation of skin microcirculatory perfusion in vivo does not involve a local response but rather a centrally mediated adaptive reflex. *Frontiers in Physiology*, 14, 1177583. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1177583>
44. Rodrigues, L. M., Rocha, C. G., Florindo, M. E., & Gregório, J. (2021). Lower Limb Perfusion Asymmetries in Humans at Rest and Following Activity—A Collective View. *Symmetry*, 13(12), 2348. <https://doi.org/10.3390/sym13122348>
45. Rodrigues, L. M., Nuno, S. L., Granja, T., Florindo, M. E., Gregório, J., & Atalaia, T. (2022). Perfusion, Stance and Plantar Pressure Asymmetries on the Human Foot in the Absence of Disease—A Pilot Study. *Symmetry*, 14(3), 441. <https://doi.org/10.3390/sym14030441>

Protective and anti-inflammatory effects of a dermocosmetic formulation containing a combination of vitamins

Efeitos protetores e anti-inflamatórios de uma formulação dermocosmética contendo uma associação de vitaminas

Laura Noronha Favaro ¹ , Patrícia Maia Campos ¹  , Letícia Kakuda ¹ , & Luís Monteiro Rodrigues ² 

Keywords: D-pantenol, liposoluble vitamin C, dermocosmetics, skin barrier

Palavras-chave: D-pantenol, vitamina C lipossolúvel, dermocosméticos, barreira cutânea

To Cite:

Favaro, L. N. , Campos, P. M., Kakuda, L. & Monteiro Rodrigues, L. (2024) Protective and anti-inflammatory effects of a dermocosmetic formulation containing a combination of vitamins. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 21(1), 27-42.

 [10.19277/bbr.21.1.335](https://doi.org/10.19277/bbr.21.1.335)

1 - School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto – University of São Paulo, Avenida do Café, S/N, Ribeirão Preto - SP, 14040-903, Brasil

2- CBIOS - Research Center for Biosciences & Health Technologies, Lusófona University, Campo Grande 376, 1749-024 Lisboa, Portugal

Correspondence to / Correspondência a:
pmcampos@usp.br

Received / Recebido: 08/03/2024

Accepted / Aceite: 17/06/2024

Abstract

The exposome accelerates the skin aging process, highlighting the need to use cosmetics capable of repairing the damage and maintaining the skin's physiological conditions. Thus, the present study aims to evaluate the potential anti-inflammatory and protective action of a dermocosmetic formulation combination of vitamins. For this, a gel-cream formulation added or not with 3% of ascorbyl tetraisopalmitate and 1% of D-panthenol was developed. The stability and sensory properties of these formulations were evaluated. In addition, a short-term clinical efficacy study of the formulations was carried out for 7 days. After this period, measurements were taken in terms of transepidermal water loss and blood microcirculation by Laser Doppler at the initial time and after the application of methyl nicotinate. The results showed that the formulations remained stable during the study period and showed pseudoplastic non-Newtonian behavior. In addition, the association of vitamins was effective in the protection of the skin against the effects of methyl nicotinate by reducing blood microcirculation, which suggests that the active substances in combination can have an anti-inflammatory and protective action on the skin barrier function.

Resumo

O exposoma acelera o processo de envelhecimento cutâneo, evidenciando a necessidade do uso de cosméticos que sejam capazes de reparar o dano e manter as condições fisiológicas da pele. Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar a potencial ação antiinflamatória e protetora da barreira cutânea de uma formulação dermocosmética contendo um associação de vitaminas. Para tal, foi desenvolvida uma formulação de gel-creme acrescida ou não de 3% de tetraisopalmitato de ascorbila e 1% de D-pantenol. A estabilidade e propriedades sensoriais dessas formulações foram avaliadas. Além disso, foi realizado um estudo de eficácia clínica em curto prazo das formulações por 7 dias. Após esse período, medidas foram realizadas em relação à perda transepidérmica de água e microcirculação sanguínea por Laser Doppler no tempo inicial e após a aplicação do metilnicotinato. Os resultados mostraram que as formulações permaneceram estáveis no período de estudo e apresentaram comportamento não newtoniano pseudoplástico. Além disso, a associação das vitaminas foi eficaz na proteção da pele contra os efeitos do metilnicotinato por reduzir a microcirculação sanguínea, o que sugere que as substâncias ativas em associação, podem apresentar ação anti-inflamatória e protetora da função barreira da pele.

Introduction

The exposome refers to a complex set of internal and external factors that accelerate the skin aging process, such as ultraviolet radiation, pollution, exposure to chemical and biological agents, diet, and biopsychosocial factors (1-3). In this context, cosmetic products must be able to repair skin damage and balance the hydrolipidic mantle using active substances capable of acting on cell regeneration and retaining water to moisturize and maintain the natural conditions of the skin. Among the vitamins that have gained popularity in the cosmetic market, vitamin C and D-panthenol stand out.

Vitamin C plays a crucial role in cellular redox processes (4,5) and is essential for collagen synthesis in the skin (4,6), making it beneficial for addressing photoaged skin concerns (7-10). However, its application in cosmetic formulations poses challenges due to its inherent instability as a water-soluble and thermolabile molecule. Vitamin C is susceptible to degradation in solution, especially at alkaline pH levels, and is highly vulnerable to oxidation when exposed to elevated temperatures and light (6,11). To overcome these stability issues and ensure sustained positive effects on the skin, cosmetic formulations often use vitamin C derivatives such as ascorbyl tetraisopalmitate (6).

On the other hand, D-panthenol is known for its stability and ability to repair and moisturize the skin, which can promote accelerated cell regeneration due to its hygroscopic properties (12,13). This vitamin, when applied topically, is converted to pantothenic acid, a natural component of skin and hair (13).

However, the efficacy of the active substance can be compromised if it is incorporated into an unpleasant vehicle, even if the active substance demonstrates excellent performance on its own.

In this perspective, the careful selection of raw materials and active substances, combined with precise formulation techniques, are crucial parameters for formulators. Attention to detail is crucial not only for achieving a pleasing sensory experience but also for ensuring acceptance and adherence to the developed cosmetic products. For example, the rheological properties and texture profile of an emulsion depend on the composition of the formulation and the interplay between its continuous and dispersed phases (14,15).

Introdução

O exposoma refere-se a um conjunto complexo de fatores internos e externos que aceleram o processo de envelhecimento da pele, como radiação ultravioleta, poluição, exposição a agentes químicos e biológicos, dieta e fatores biopsicossociais (1-3). Neste contexto, os produtos cosméticos devem ser capazes de reparar danos na pele e equilibrar o manto hidrolipídico usando substâncias ativas capazes de agir na regeneração celular e reter água para hidratar e manter as condições naturais da pele. Entre as vitaminas que ganharam popularidade no mercado cosmético, destacam-se a vitamina C e o D-pantenol.

A vitamina C desempenha um papel crucial nos processos de oxirredução celulares (4,5) e é essencial para a síntese de colágeno na pele (4,6), tornando-a benéfica para lidar com preocupações relacionadas à fotoenvelhecimento da pele (7-10). No entanto, sua aplicação em formulações cosméticas apresenta desafios devido à sua instabilidade inerente como molécula hidrossolúvel e termolábil. A vitamina C é suscetível à degradação em solução, especialmente em níveis de pH alcalinos, e é altamente vulnerável à oxidação quando exposta a temperaturas elevadas e luz (6,11). Para superar esses problemas de estabilidade e garantir efeitos positivos sustentados na pele, formulações cosméticas frequentemente utilizam derivados de vitamina C, como o tetraisopalmitato de ascorbila (6).

Por outro lado, o D-pantenol é conhecido por sua estabilidade e capacidade de reparar e hidratar a pele, o que pode promover a regeneração celular acelerada devido às suas propriedades higroscópicas (12,13). Esta vitamina, quando aplicada topicamente, é convertida em ácido pantotênico, um componente natural da pele e cabelo (13).

No entanto, a eficácia da substância ativa pode ser comprometida se ela for incorporada a um veículo desagradável, mesmo que a substância ativa demonstre excelente desempenho por si só.

Nesta perspectiva, a seleção cuidadosa de matérias-primas e substâncias ativas, combinada com técnicas de formulação precisas, são parâmetros cruciais para os formuladores. A atenção aos detalhes é crucial não apenas para alcançar uma experiência sensorial agradável, mas também para garantir a aceitação e adesão aos produtos cosméticos desenvolvidos. Por exemplo, as propriedades reológicas e o perfil de

This analysis is a critical factor in assessing the physical stability of cosmetic formulations (16). They are versatile tools with broad applications in formulation development, physical stability studies, and sensory analysis, all aimed at promoting the acceptance and sustained use of cosmetics (14).

After evaluating the stability and physicochemical properties of formulations, it is necessary to assess their clinical efficacy in vivo to support their proposed claims. The use of biophysical techniques and skin image analysis has become increasingly important for non-invasive assessments of skin characteristics (17). These methods offer objective and real-time evaluations of the skin.

Methyl nicotinate (MN) is a useful tool in the clinical efficacy protocol for investigating the anti-inflammatory activity of cosmetic formulations and assessing skin damage. MN, which is derived from nicotinic acid, induces a transient localized inflammatory response by releasing prostaglandin D2 and activating cyclooxygenase (18,19).

In this context, the objective of this study was to develop and evaluate the efficacy of dermocosmetic formulations containing D-panthenol and ascorbyl tetraisopalmitate in reducing microinflammation and improving the skin barrier using biophysical techniques and skin image analysis.

Materials and methods

Development of formulations

A gel-cream formulation was developed as described in Table 1. The vehicle formulation was designated as F1, while the formulation containing the association of the active substances was designated as F2.

Stability study and visual evaluation of formulations

Preliminary centrifugation tests were conducted 24 hours after preparing the formulations. Subsequently, pH and organoleptic analysis, including color, odor, and phase separation, were

textura de uma emulsão dependem da composição da formulação e da interação entre suas fases contínua e dispersa (14,15).

Essa análise é um fator crítico na avaliação da estabilidade física de formulações cosméticas (16). Elas são ferramentas versáteis com amplas aplicações no desenvolvimento de formulação, estudos de estabilidade física e análise sensorial, todos com o objetivo de promover a aceitação e o uso contínuo de cosméticos (14).

Após avaliar a estabilidade e as propriedades físico-químicas das formulações, é necessário avaliar sua eficácia clínica in vivo para sustentar suas alegações propostas. O uso de técnicas biofísicas e análise de imagem da pele tornou-se cada vez mais importante para avaliações não invasivas das características da pele (17). Esses métodos oferecem avaliações objetivas e em tempo real da pele.

O metil nicotinato (MN) é uma ferramenta útil no protocolo de eficácia clínica para investigar a atividade anti-inflamatória de formulações cosméticas e avaliar danos na pele. O MN, derivado do ácido nicotínico, induz uma resposta inflamatória localizada transitória ao liberar prostaglandina D2 e ativar a ciclooxygenase (18,19).

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi desenvolver e avaliar a eficácia de formulações dermocosméticas contendo D-pantenol e tetraisopalmitato de ascorbila na redução da microinflamação e melhoria da barreira cutânea usando técnicas biofísicas e análise de imagem da pele.

Material e métodos

Desenvolvimento das formulações

Foi desenvolvida uma formulação em gel-creme conforme descrito na Tabela 1. A formulação veículo foi designada como F1, enquanto a formulação contendo a associação das substâncias ativas foi designada como F2.

Estudo de estabilidade das formulações e avaliação visual

Foram realizados testes preliminares de centrifugação 24 horas após a preparação das formulações. Posteriormente, análises de pH e organolépticas, incluindo cor, odor e separação de fases, foram

Table 1 - Composition (w/w) of the developed formulations.**Tabela 1** - Composição (p/p) das formulações desenvolvidas.

INCI Name ¹	F1 (%)	F2 (%)
Disodium EDTA	0.2	0.2
Ammonium Acryloyldimethyl-taurate / VP Copolymer	0.5	0.5
Glycerin	6	6
Aqua	q.s.p. 100	q.s.p. 100
Behenyl Alcohol, Polyglyceryl-10 Pentastearate, Sodium Stearoyl Lactylate	3	3
Caprylic/Capric Triglyceride	3	3
BHT	0.03	0.03
Propylene Glycol	1	1
Benzyl Alcohol (and) Xylitol (and) Caprylic Acid	1.5	1.5
Ascorbyl tetraisopalmitate	-	3
Panthenol	-	1

¹International Nomenclature Cosmetic Ingredients

conducted every seven days for 36 days. The formulations were stored in glass containers under controlled conditions of temperature (approximately 25 °C - room temperature, 37 °C, and 45 °C), humidity (70% RH), and light exposure using thermostated ovens (Eletrolab model 111FC) (20).

The stability tests of the formulations followed the protocols outlined in the Stability Guide for Cosmetic Products established by ANVISA (National Health Surveillance Agency) in Brazil (21).

Rheological behavior study

The rheological behavior of the formulations was analyzed using a DV-III cone and plate type digital rheometer (AMETEK Brookfield, Middleboro, MA, USA), with shear rate control. The rheological parameters assessed included rheological behavior and hysteresis area.

Physical stability was evaluated by subjecting the formulations to thermal stress at 37°C and 45°C while maintaining them at approximately room temperature ($\approx 25^\circ\text{C}$). Samples of 0.50 ± 0.01 g were collected over a period of 36 days (22,23).

The rotational speed was increased gradually from 0 to 250 rpm with 5-second intervals between each speed increment. This formed an ascending curve consisting of ten points that represent the relationship between 'Shear rate' and 'Shear stress'. Subsequently, a descending curve was generated by inversely decreasing the velocity (15).

realizadas a cada sete dias durante 36 dias. As formulações foram armazenadas em recipientes de vidro sob condições controladas de temperatura (aproximadamente 25 °C - temperatura ambiente - 37 °C e 45 °C), umidade (70% de UR), e exposição à luz utilizando estufas termostatizadas (Eletrolab modelo 111FC) (20).

Os testes de estabilidade das formulações seguiram os protocolos delineados no Guia de Estabilidade para Produtos Cosméticos estabelecido pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) no Brasil (21).

Estudo do comportamento reológico

O comportamento reológico das formulações foi analisado utilizando um reômetro digital DV-III do tipo cone e placa (AMETEK Brookfield, Middleboro, MA, , EUA), com controle de taxa de cisalhamento. Os parâmetros reológicos avaliados incluíram comportamento reológico e área de histerese.

A estabilidade física foi avaliada submetendo as formulações a estresse térmico a 37°C e 45°C, mantendo-as aproximadamente à temperatura ambiente ($\approx 25^\circ\text{C}$). Amostras de $0,50 \pm 0,01$ g foram coletadas ao longo de um período de 36 dias (22,23).

A velocidade de rotação foi aumentada gradualmente de 0 a 250 rpm com intervalos de 5 segundos entre cada incremento de velocidade. Isso formou uma curva ascendente consistindo de dez pontos que representam a relação entre 'Taxa de cisalhamento' e 'Tensão de cisalhamento'. Posteriormente, uma curva descendente foi gerada diminuindo inversamente a velocidade (15).

Prism 8.0.1 software for Windows (GraphPad Software, San Diego, California USA) was used to perform numerical integration of the obtained curves of the rheograms. The hysteresis area, which is indicative of the thixotropic phenomenon, was calculated by determining the area under the curve (22). All measurements were conducted in triplicate to ensure accuracy.

Texture and spreadability profile analysis

Texture and spreadability profile analysis were conducted using the TA.XT Plus[®] texturometer (Extralab Brasil; Jarinu, Brazil) and integrated with Exponent software. The method consists of the insertion of an analytical probe into the sample at a pre-determined speed and depth. The analyses were conducted 24 hours after formulation development, and all assessments were performed in quintuplicate.

The TTC Spreadability Ring (HDP/SR) probe was used to evaluate the spreadability of the formulations (15,24). The work of shear parameter was calculated as the area under the positive curve. The parameters used were a return distance of 25 mm, a return speed of 20 mm/sec, and a trigger force of 2 g (15,16).

Sensorial analysis

Sensory analysis was performed using a questionnaire that included statements related to spreadability, smoothness, moisturizing sensation, and stickiness (15,25). Fifty-two healthy participants were recruited following approval by the Ethics Committee for Research Involving Human Subjects at the Faculty of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, University of São Paulo (CEP CAAE: 52158921.9.0000.5403). The study participants were untrained individuals between the ages of 18 and 29 with skin phototypes II to IV (26).

A 20 cm² circle was delineated on the anterior region of each participant's forearm for analysis. Within this area, a standardized amount of 2 mg/cm² was applied, resulting in 40 mg of formulation per region. The formulations, which were randomly selected, included the base vehicle (F1) and the vehicle added with the association of the active substances (F2).

The parameters analyzed after application were spreadability and smoothness. The parameters analyzed 10 minutes after application were stickiness and hydration. Participants were asked to evaluate each parameter by indicating whether they 'agree'

O software Prism 8.0.1 para Windows (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA) foi utilizado para realizar a integração numérica das curvas de reogramas obtidas. A área de histerese, que é indicativa do fenômeno tixotrópico, foi calculada determinando a área sob a curva (22). Todas as medições foram realizadas em triplicata para garantir precisão.

Análise do perfil de textura e espalhabilidade

A análise do perfil de textura e espalhabilidade foi conduzida utilizando o texturômetro TA.XT Plus[®] (Extralab Brasil; Jarinu, Brasil) e integrado com o software Exponent. O método consiste na inserção de uma sonda analítica na amostra a uma velocidade e profundidade pré-determinadas. As análises foram realizadas 24 horas após o desenvolvimento da formulação, e todas as avaliações foram realizadas em quintuplicata.

A sonda TTC Spreadability Ring (HDP/SR) foi utilizada para avaliar a espalhabilidade das formulações (15, 24). O parâmetro de trabalho de cisalhamento foi calculado como a área sob a curva positiva. Os parâmetros utilizados foram uma distância de retorno de 25 mm, uma velocidade de retorno de 20 mm/s e uma força de gatilho de 2 g (15,16).

Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada utilizando um questionário que incluía declarações relacionadas à espalhabilidade, suavidade, sensação de hidratação e pegajosidade (15,25). Foram recrutados 52 participantes saudáveis após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (CEP CAAE:52158921.9.0000.5403). Os participantes do estudo eram indivíduos não treinados com idades entre 18 e 29 anos e fototipos de pele II a IV (26).

Um círculo de 20 cm² foi delineado na região anterior do antebraço de cada participante para análise. Dentro dessa área, uma quantidade padronizada de 2 mg/cm² foi aplicada, resultando em 40 mg de formulação por região. As formulações, que foram selecionadas aleatoriamente, incluíam o veículo base (F1) e o veículo adicionado com a associação das substâncias ativas (F2).

Os parâmetros analisados após a aplicação foram espalhabilidade e suavidade. Os parâmetros analisados após 10 minutos da aplicação foram pegajosidade e hidratação. Os participantes foram solicitados a avaliar cada parâmetro indicando

'partially agree,' or 'disagree' with the following statements: 'The formulation has good spreadability,' 'The applied formulation has a soft touch,' 'The formulation is sticky,' and 'The formulation leaves the skin hydrated.'

Short-term clinical efficacy study

The clinical efficacy study was initiated following approval by the Ethics Committee for Research Involving Human Subjects at the Lusophone Universidade Lusófona's Research Center for Biosciences & Health Technologies (04/13), adhering to the principles of the Declaration of Helsinki. A total of eight participants, both men and women aged 25 to 35 years with skin phototypes II and III, were enrolled in the study.

Forearm measurements were taken at baseline (T0), after seven consecutive days of applying the formulations (T7), and after applying methyl nicotinate (MN) to three predetermined regions. Participants applied either the vehicle formulations (F1) or the formulations added with the vitamins (F2) to the first two regions. The third region served as a control, where no formulation was applied. The regions were randomly selected to ensure unbiased assessment.

The study used Laser Doppler technology (LDF, PeriFluxSystem 5000, Perimed AB, Järfälla, Sweden) to map the cutaneous microcirculation in each region. This non-invasive device scans a skin area with a laser, detects changes in light reflecting off moving blood, and generates a blood flow map in the skin, providing a detailed assessment of tissue perfusion. Perfusion values are expressed in arbitrary perfusion units (PU's). In this study, this technique proved to be an important method for characterizing and grading the micro-inflammatory response induced by MN.

Transepidermal water loss (TEWL) was measured using the Tewameter® TM 210 device (Courage & Khazaka; Cologne, Germany) coupled with specialized software. TEWL values were reported in $\text{g.m}^2.\text{h}^{-1}$ (27) and indicate the extent of skin barrier function damage, even when the skin appears intact. This equipment measures the amount of water that evaporates through the skin. It is an important parameter in assessing the integrity of the skin barrier (22). The Tewameter® probe indirectly measures the density gradient of water evaporation from the skin by the two pairs of sensors (temperature and relative humidity) inside the hollow cylinder.

se 'concordam,' 'concordam parcialmente' ou 'discordam' das seguintes declarações: 'A formulação tem boa espalhabilidade,' 'A formulação aplicada tem um toque suave,' 'A formulação é pegajosa' e 'A formulação deixa a pele hidratada.'

Estudo de eficácia clínica em curto prazo

O estudo de eficácia clínica foi iniciado após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos no Research Center for Biosciences & Health Technologies da Universidade Lusófona (04/13), seguindo os princípios da Declaração de Helsinki. Um total de 8 participantes, homens e mulheres com idades entre 25 e 35 anos e fototipos de pele II e III, participaram do estudo.

Medições do antebraço foram realizadas no início (T0), após sete dias consecutivos de aplicação das formulações (T7) e após a aplicação de nicotinato de metila (MN) em três regiões predeterminadas. Os participantes aplicaram as formulações veiculares (F1) ou as formulações adicionadas das vitaminas (F2) nas duas primeiras regiões. A terceira região serviu como controle, onde nenhuma formulação foi aplicada. As regiões foram selecionadas aleatoriamente para garantir uma avaliação imparcial.

O estudo utilizou a tecnologia de Laser Doppler (LDF, PeriFluxSystem 5000, Perimed AB, Järfälla, Suécia) para mapear a microcirculação cutânea em cada região. Este dispositivo não invasivo escaneia uma área da pele com um laser, detecta mudanças na luz refletida pelo movimento do sangue e gera um mapa de fluxo sanguíneo na pele, fornecendo uma avaliação detalhada da perfusão tecidual. Os valores de perfusão são expressos em unidades de perfusão arbitrárias (PU's). Neste estudo, esta técnica mostrou ser um método importante para caracterizar e classificar a resposta micro-inflamatória induzida por MN.

A perda transepidermica de água (TEWL) foi medida usando o dispositivo Tewameter® TM 210 (Courage & Khazaka; Colônia, Alemanha) acoplado a software especializado. Os valores de TEWL foram relatados em $\text{g.m}^2.\text{h}^{-1}$ (27) e indicam a extensão do dano à função de barreira da pele, mesmo quando a pele parece intacta. Este equipamento mede a quantidade de água que evapora através da pele. É um parâmetro importante na avaliação da integridade da barreira cutânea (22). A sonda Tewameter® mede indiretamente o gradiente de densidade da evaporação da água da pele pelos dois pares de sensores (temperatura e umidade relativa) dentro do cilindro oco.

Statistical analysis and presentation of results

The experimental data was analyzed using Prism 8 software. Normality was assessed using the Shapiro-Wilk test. For normally distributed data, one-way ANOVA with Tukey's post-test was employed. For non-normal cases, the Kruskal-Wallis test was used, followed by Dunn's post-test.

Results

Stability of formulations and visual evaluation study

The formulations, with or without active substances, passed the centrifugation test, showing no phase separation 24 hours after preparation. All formulations had a pH range of 4.5 to 5.5 (28). Moreover, there was no significant ($p > 0.05$) change in pH during the study period.

Additionally, no changes in color, odor, homogeneity, or phase separation were observed during the study period when kept at room temperature or subjected to thermal stress.

Rheological behavior study

The formulations under study showed a non-Newtonian rheological behavior with thixotropic pseudoplastic characteristics (Figure 1), with a flow index lower than 1 and viscosity recovery after shear reduction (15).

Análise estatística e apresentação dos resultados

Os dados experimentais foram analisados utilizando o software Prism 8. A normalidade dos dados foi avaliada utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Para dados normalmente distribuídos, foi empregada a análise de variância (ANOVA) de um fator com o teste de Tukey como pós-teste. Para casos não normais, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo pós-teste de Dunn.

Resultados

Estudo de estabilidade das formulações e avaliação visual

As formulações, com ou sem substâncias ativas, passaram no teste de centrifugação, não apresentando separação de fases após 24 horas de preparação. Todas as formulações apresentaram um intervalo de pH de 4,5 a 5,5 (28).

Além disso, não houve alteração significativa ($p > 0,05$) no pH durante o período do estudo. Além disso, não foram observadas alterações na cor, odor, homogeneidade ou separação de fases durante o período do estudo quando mantidas à temperatura ambiente ou submetidas a estresse térmico.

Estudo do comportamento reológico

As formulações em estudo apresentaram comportamento reológico não newtoniano do tipo pseudoplástico tixotrópico (Figura 1), com índice de fluxo menor que 1 e recuperação da viscosidade após redução do cisalhamento (15).

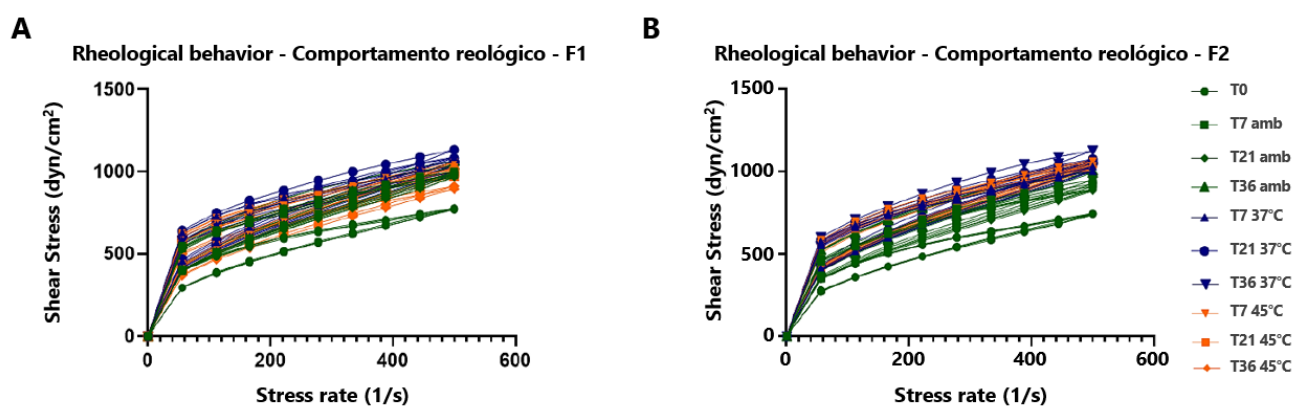


Figure 1 - Rheological behavior of formulations F1 (A) and F2 (B).

Figura 1 - Comportamento reológico das formulações F1 (A) e F2 (B).

Regarding the hysteresis area, F2 presented significantly ($p < 0.05$) lower values compared to F1 (Figure 2).

Em relação à área de histerese, F2 apresentou valores significativamente inferiores comparado a F1 (Figura 2).

Texture and spreadability profile analysis

Análise do perfil de textura e espalhabilidade

Regarding the texture and spreadability profile, the formulation added with the active substances showed significantly lower values ($p < 0.05$) in relation to the vehicle formulation in terms of firmness and work of shear (Figure 3).

Em relação ao perfil de textura e espalhabilidade, a formulação acrescida com as substâncias ativas apresentou valores significativamente inferiores em relação a formulação veículo nos parâmetros de firmeza e trabalho de cisalhamento (Figura 3).

Sensorial Analysis

Análise Sensorial

An untrained panel was used for the sensory analysis, and both formulations presented a similar profile regarding the parameters of spreadability, smoothness, hydration sensation, and stickiness (Figures 4 and 5).

Para a análise sensorial foi utilizado um painel não treinado e ambas as formulações apresentaram um perfil semelhante quanto aos parâmetros de espalhabilidade, sensação ao toque, hidratação e pegajosidade (Figuras 4 e 5).

Hysteresis area – Área de histerese

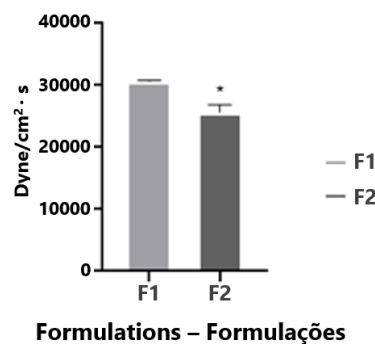
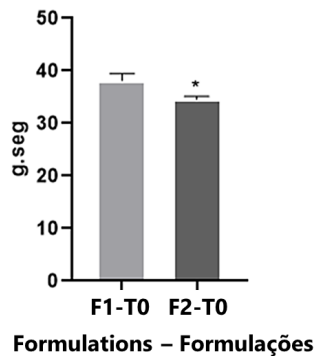


Figure 2 - Hysteresis area of formulations F1 and F2. (*) Represents the significant difference between the two formulations ($p < 0.05$).

Figura 2 - Área de histerese das formulações F1 e F2. (*) Representa a diferença significativa em relação às duas formulações ($p < 0,05$).

A

Work of shear – Trabalho de Cisalhamento



B

Firmness – Firmeza

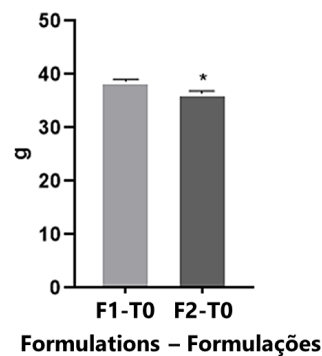


Figure 3 - Texture profile and spreadability of formulations F1 and F2: (A) Work of shear; (B) Firmness. (*) Represents the significant difference between the two formulations ($p < 0.05$).

Figura 3 - Perfil de textura e espalhabilidade das formulações F1 e F2, sendo: (A) Trabalho de cisalhamento; (B) Firmeza. (*) Representa a diferença significativa em relação às duas formulações ($p < 0,05$).

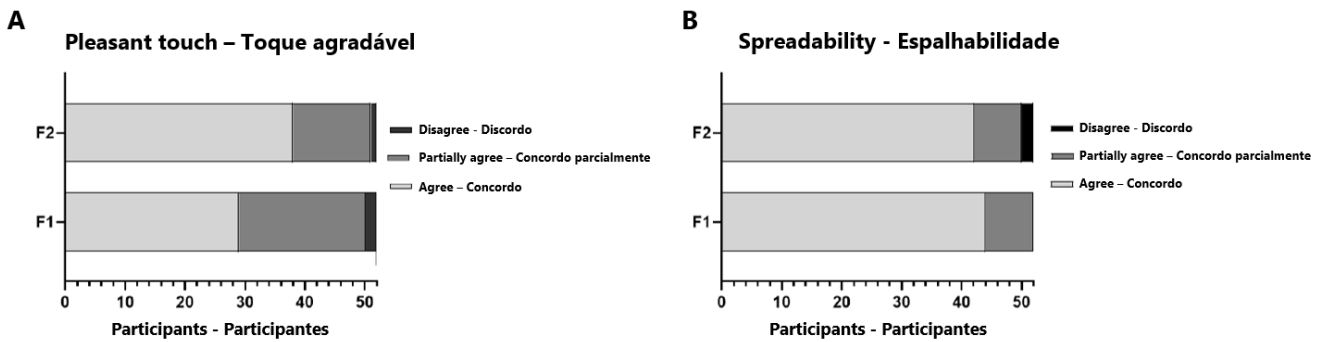


Figure 4 - Result of sensory analysis after applying formulations F1 and F2.
Figura 4 - Resultado da análise sensorial após a aplicação das formulações F1 e F2.

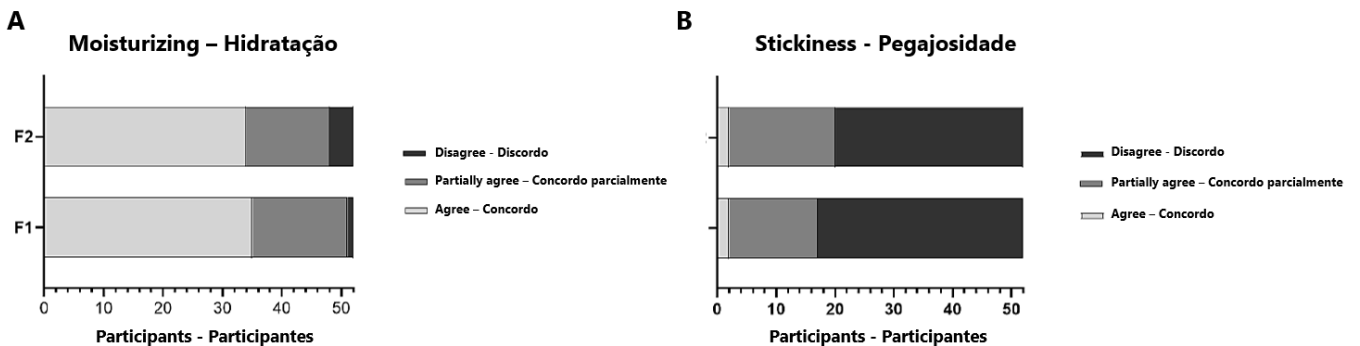


Figure 5 - Result of sensory analysis after 10 minutes of application of formulations F1 and F2.
Figura 5 - Resultado da análise sensorial após 10 minutos de aplicação das formulações F1 e F2.

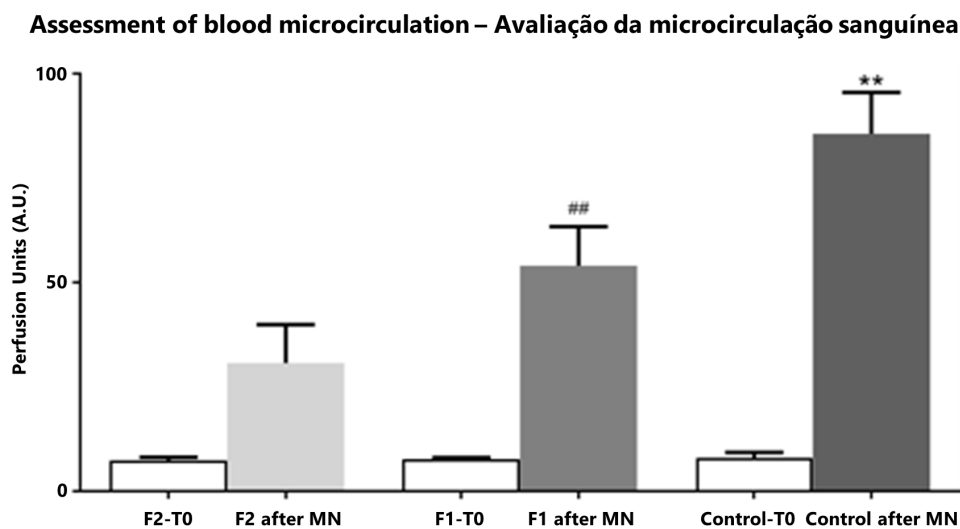


Figure 6 - Evaluation of skin blood microcirculation after 7 days of use of formulations F1 and F2 (t0) and after methylnicotinate (MN) application. ## Significant ($p \leq 0.05$) when compared to F2 after MN application. ** Significant ($p \leq 0.001$) when compared to F2 after MN application.
Figura 6 - Avaliação da microcirculação sanguínea da pele após 7 dias de uso das formulações F1 e F2 (t0) e após a aplicação do metilnicotinato (MN). ## Significante ($p \leq 0.05$) quando comparado com F2 após a aplicação do MN. ** Significante ($p \leq 0.001$) quando comparado com F2 após a aplicação do MN.

Short-term clinical efficacy study

Blood microcirculation before MN application (t0) has not shown statistical significance. After applying methyl nicotinate, it is possible to observe that the application of the F2 formulation significantly ($p < 0.05$) reduced the microcirculation when compared to the vehicle formulation (F1) and the control region (Figure 6). In addition, this reduction in inflammation can be observed through the coloration of the erythema (Figure 7) since the erythema is less intense in the area where the F2 formulation was applied.

Estudo de eficácia clínica em curto prazo

A microcirculação sanguínea antes da aplicação do MN (t0) não mostrou diferença estatística. Após a aplicação do metilnicotinato é possível observar que a aplicação da formulação F2 diminuiu significativamente ($p < 0,05$) a microcirculação em relação a formulação veículo (F1) e a região controle (Figura 6). Além disso, essa redução da inflamação pode ser observada por meio da coloração do eritema (Figura 7), uma vez que o eritema é menos intenso na área em que foi aplicada a formulação F2.



Figure 7 - Representative images of the erythema formed after application of 1% Methyl Nicotinate. A- region of application of the F2 formulation. B- the region of application of the F1 formulation. C- control region without cosmetic intervention.

Figura 7 - Imagens representativas do eritema formado após a aplicação do Metilnicotinato 1%. A- região de aplicação da formulação F2. B- região de aplicação da formulação F1. C- região controle sem intervenção cosmética.

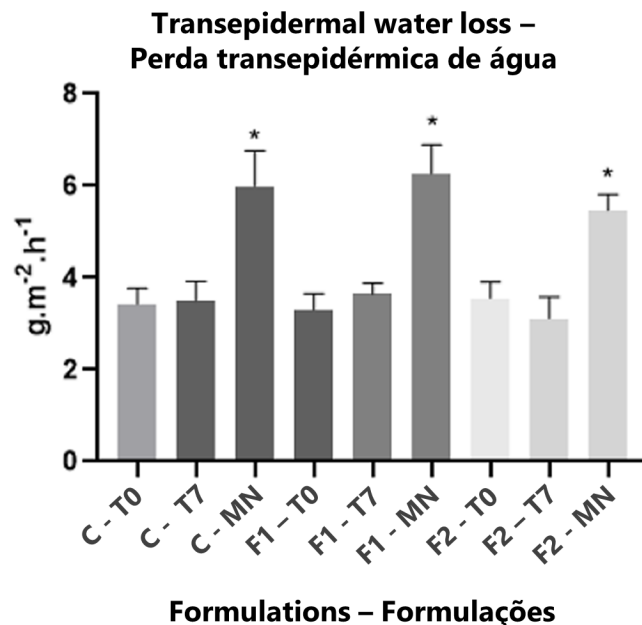


Figure 8 - Evaluation of transepidermal water loss at the initial time (T0), after 7 days of use of formulations F1 and F2, and after application of methylnicotinate (MN). C – control * significant increase ($p > 0.05$) in relation to time 7 days.

Figura 8 - Avaliação da perda transepidérmica de água no tempo inicial (T0), após 7 dias de uso das formulações F1 e F2 e após a aplicação do metilnicotinato (MN). C - controle * - aumento significativo ($p > 0,05$) em relação ao tempo 7 dia.

The use of F1 for seven days did not reduce the action of MN on the skin since the transepidermal water loss increased in the same proportion as the control (approximately 68%) (Figure 8). However, the continuous use of F2 showed a smaller increase in TEWL after the application of the irritating agent (MN) when compared to the control and F1.

Discussion

The formulations with or without the active substances were stable in the stability tests, where the pH of the formulations remained in the skin compatibility range (7,29). Regarding the centrifugation test, all formulations were homogeneous and considered stable in this test. In addition, no change in color or odor or phase separation was observed during the study period.

From the rheograms, it was possible to analyze the rheological behavior of the formulations. The formulation were stable during the 36 days at the three studied temperature conditions, as there were no peaks or changes in the rheograms during the analysis period. Furthermore, the addition of active substances did not alter the rheological profile of the formulations.

In addition, the hysteresis area, resulting from the thixotropy phenomenon, is the area calculated between the ascending and descending curves. Thixotropy indicates the time the material takes to reorganize and return to the initial structure after the shear is removed (22, 30). Thus, the hysteresis area is directly proportional to thixotropy; that is, the smaller the hysteresis area, the lower the thixotropy (31). Therefore, F1 presented a higher value of hysteresis area when compared to F2, showing that the addition of active substances generates a decrease in the time that the structure of the formulation takes to reorganize itself (22).

By comparing different formulations, it is possible to correlate instrumental texture measurements with the assessment of sensory properties. The work of shear is inversely proportional to the spreadability of the formulation on the skin (15,23,32), and the F2 formulation presented a work of shear value significantly lower than F1. Still, this difference was not noticed by the participants in the spreadability parameter of the sensory properties analysis.

O uso de F1 por sete dias não reduziu a ação do MN na pele, pois a perda transepidérmica de água aumentou na mesma proporção que o controle (aproximadamente 68%) (Figura 8). No entanto, o uso contínuo de F2 mostrou um aumento menor na TEWL após a aplicação do agente irritante (MN), quando comparado ao controle e F1.

Discussão

As formulações acrescidas ou não das substâncias ativas apresentaram estáveis frente aos testes de estabilidade, onde o pH das formulações permaneceram na faixa de compatibilidade cutânea (7,29). Em relação ao teste de centrifugação, todas as formulações apresentaram-se homogêneas e consideradas estáveis frente a este teste. Além disso, não foi observado alteração de cor, odor e separação de fases durante o período de estudo.

A partir dos reogramas foi possível analisar o comportamento reológico das formulações, onde elas se apresentaram estáveis durante os 36 dias nas três condições de temperatura, uma vez que não houve picos ou alterações nos reogramas durante o período de análise. Ademais, é possível afirmar que a adição das substâncias ativas não alterou o perfil reológicos das formulações.

Além disso, a área de histerese, resultante do fenômeno de tixotropia, é a área calculada entre as curvas ascendente e a descendente. A tixotropia indica o tempo que o material leva para se reorganizar e retornar à estrutura inicial depois que o cisalhamento é removido (22,30). Assim, a área de histerese é diretamente proporcional à tixotropia, ou seja, quanto menor a área de histerese, menor a tixotropia (31). Dessa forma, a F1 apresentou maior valor de área de histerese quando comparada com a F2, mostrando que a adição das substâncias ativas gera uma diminuição do tempo que a estrutura da formulação leva para se reorganizar (22).

Ao comparar diferentes formulações é possível correlacionar as medidas instrumentais de textura com a avaliação das propriedades sensoriais. O trabalho de cisalhamento (work of shear) é inversamente proporcional à espalhabilidade da formulação sobre a pele (15,23,32), sendo que a formulação F2 apresentou um valor de work of shear significativamente inferior à F1, porém tal diferença não foi notada pelos participantes na análise sensorial no parâmetro de espalhabilidade. Além disso, a firmeza altera a microestrutura da emulsão, como foi observado na redução desse parâmetro para

Furthermore, firmness alters the microstructure of the emulsion, as observed in the reduction of this parameter for the F2 formulation. This may be related to the large structure of ascorbyl tetraisoalmitate, since it has four isoalmitate chains around vitamin C (6), making the microstructure of the emulsion less cohesive. However, no difference was noticed in sensory perception since an untrained panel was used (33). Thus, the choice of this panel is related to the objective of the study, which is to mimic the final consumer, considering not only the physical characteristics of the formulation but also the cognitive process, such as emotions and personal preferences (34). Furthermore, both formulations were not considered sticky, indicating that the addition of active substances did not alter the participants' sensory perception in relation to this parameter.

In this way, the participants characterized the F2 formulation with a more pleasant touch than the F1, and the addition of the active substances did not influence the spreadability. Furthermore, 96.15% of the participants considered both formulations as non-sticky, indicating that D-panthenol and ascorbyl tetraisoalmitate did not change the cohesiveness of the formulation (15).

Nicotinates, such as methyl nicotinate, rapidly penetrate the stratum corneum via the intercellular route and, when they reach the dermis, lead to the production of inflammatory mediators, such as prostaglandins, which momentarily promote erythema and vasodilation (35). Thus, MN damages the skin barrier, promoting a hydrolipidic imbalance and disarray in the structure of lipids in the stratum corneum (36). This imbalance is one of the mechanisms responsible for increased skin permeability, which can be assessed through transepidermal water loss (36).

The TEWL values provide valuable information about the ability of the skin to retain moisture and protect against external factors such as allergens, irritants, and pathogens. Higher TEWL values indicate a compromised skin barrier, which can lead to dryness, sensitivity, and increased susceptibility to skin conditions. Monitoring TEWL values is particularly important in dermatology and cosmetic research, as it helps evaluate the efficacy of skincare products, treatments, and interventions aimed at improving skin barrier function (22).

a formulação F2. Isso pode estar relacionado com grande estrutura do tetraisoalmitato de ascorbila, uma vez que apresenta quatro cadeias de isoalmitato ao redor da vitamina C (6), tornando a microestrutura da emulsão menos coesa. Todavia, novamente tal diferença não foi notada na percepção sensorial, uma vez que foi utilizado um painel não treinado (33). Dessa forma, a escolha deste painel, relaciona-se com o objetivo do estudo, pois visa mimetizar o consumidor final, levando em consideração não apenas as características físicas da formulação, mas também o processo cognitivo, como as emoções e preferências pessoais (34). Além disso, ambas as formulações não foram consideradas pegajosas, indicando que a adição das substâncias ativas não alteraram a percepção sensorial dos participantes em relação a esse parâmetro.

Dessa forma, os participantes caracterizaram a formulação F2 com um toque mais agradável do que a F1 e a adição das substâncias ativas não influenciou a espalhabilidade. Além disso, 96,15% dos participantes consideraram as duas formulações como não pegajosas, indicando que o D-panthenol e o tetraisoalmitato de ascorbila não alteraram a coesividade da formulação (15).

Nicotinatos, como o metilnicotinato, penetram rapidamente pelo estrato córneo pela rota intercelular e, quando atingem a derme, levam a produção de mediadores inflamatórios, como as prostaglandinas, que promovem o eritema e a vasodilatação momentaneamente (35). Dessa forma, o MN danifica a barreira cutânea, promovendo um desbalanço hidrolipídico e desarranjo na estrutura dos lipídios no estrato córneo (36). Esse desbalanço é um dos mecanismos responsáveis pelo aumento da permeabilidade na pele, o qual é possível avaliar por meio da perda transepidermica de água (36).

Os valores de TEWL fornecem informações valiosas sobre a capacidade da pele de reter umidade e proteger contra fatores externos como alérgenos, irritantes e patógenos. Valores mais altos de TEWL indicam uma barreira cutânea comprometida, o que pode levar a ressecamento, sensibilidade e aumento da suscetibilidade a condições da pele. Monitorar os valores de TEWL é particularmente importante na dermatologia e na pesquisa cosmética, pois ajuda a avaliar a eficácia de produtos para cuidados com a pele, tratamentos e intervenções destinadas a melhorar a função da barreira cutânea (22).

Thus, the continuous use of the formulations for seven days did not change the TEWL. However, using F1 did not protect the skin barrier since there was an increase in TEWL at T7 after NM application. In the region where F2 was applied, the increase in TEWL was smaller, indicating that the formulation with the addition of active substances has the potential to protect skin barrier function.

In addition, the increase in TEWL after the application of MN indicates that the skin barrier has been damaged, and, with this, there is an induction of erythema and microinflammation. The F2 formulation reduced the damage caused by MN, by reducing microcirculation in the area where the MN was applied, which can be associated with an anti-inflammatory effect.

The observed results may be related to the effects of the vitamin, as D-panthenol is known for its emollient, repairing, moisturizing, and anti-inflammatory properties. It can accelerate cell regeneration, helping to heal superficial injuries such as burns, fissures, plastic surgery, and ulcerative and allergic dermatoses (12, 13). Furthermore, vitamin C functions as an antioxidant and can protect the skin from free radicals (6), since MN, derived from nicotinic acid, can induce the release of endoperoxidase and free radicals in the skin (19).

Conclusion

The developed formulations were stable during the period of study. Regarding sensory properties, the F2 formulation was evaluated as smoother than the F1, and the addition of active substances did not interfere with the participant's perception since both presented a similar profile in terms of moisturizing, stickiness, and spreadability. After the induction of vasodilation with methyl nicotinate, the application of F2 limited skin micro-inflammation and reduced damage to the skin barrier compared to the vehicle and control regions. Finally, the cosmetic formulation developed with the association of vitamins was able to attenuate the effects of methyl nicotinate due to an anti-inflammatory action.

Assim, o uso contínuo das formulações por sete dias não alterou a TEWL. No entanto, o uso de F1 não protegeu a barreira da pele, pois houve um aumento na TEWL em T7 após a aplicação de NM. Na região onde F2 foi aplicado, o aumento na TEWL foi menor, indicando que a formulação com a adição de substâncias ativas têm o potencial de proteger a função da barreira cutânea.

Além disso, após a aplicação do MN, o aumento da TEWL indica que a barreira cutânea foi danificada e, com isso, há indução do eritema e da microinflamação. A formulação F2 diminuiu o dano causado pelo MN, por reduzir significativamente a microcirculação na área onde foi aplicado o MN, o que pode ser associado a um efeito anti-inflamatório.

Os resultados observados podem estar relacionados aos efeitos da vitamina, uma vez que o D-pantenol é conhecido por suas propriedades emolientes, reparadoras, hidratantes e anti-inflamatórias. Ele pode acelerar a regeneração celular, ajudando a curar lesões superficiais como queimaduras, fissuras, cirurgias plásticas e dermatoses ulcerativas e alérgicas (12,13). Além disso, a vitamina C atua como antioxidante e pode proteger a pele dos radicais livres (6), uma vez que o MN, derivado do ácido nicotínico, pode induzir a liberação de endoperoxidase e radicais livres na pele (19).

Conclusão

As formulações desenvolvidas foram estáveis durante o período de estudo. Em relação às propriedades sensoriais, a formulação F2 foi avaliada como mais suave do que a F1 e a adição das substâncias ativas não interferiram na percepção sensorial dos participantes, uma vez que, ambas apresentaram um perfil semelhante quanto a hidratação, pegajosidade e espalhabilidade. Após a indução da vasodilatação com metilnicotinato, a aplicação da F2 limitou a microinflamação na pele e reduziu os danos na barreira cutânea em relação ao veículo e região controle. Por fim, a formulação cosmética desenvolvida acrescida da associação das vitaminas foi eficaz na atenuação dos efeitos do metilnicotinato, devido a ação anti- inflamatória.

Authors Contribution Statement

LF was responsible for the experimental, data collection, and analysis, in addition to writing the article; LK was responsible for the collection and evaluation of the results, in addition to writing revision; SF was responsible for evaluating the results and writing revision; LMR e PMC co-coordinated the study, including supervising the conceptual design; PMC supervised the study and was responsible for the final review of the article.

Funding

The authors would like to thank FAPESP - São Paulo Research Foundation (grant number: 2022/05122-6 and 2021/10186-0) for financial support.

Conflicts of interest

The editors involved in this manuscript's authorship had no participation in the review or decision process. All authors have stated that there are no financial and/or personal relationships that could represent a potential conflict of interest.

Declaração de contribuição dos autores

LF foi responsável pela experimental, coleta e análise dos dados, além da redação do artigo; LK foi responsável pela coleta e avaliação dos resultados, além da revisão da redação; SF foi responsável pela avaliação dos resultados e revisão da redação; LMR e PMC co-coordenaram o estudo, incluindo a supervisão do desenho conceitual; PMC coordenou o estudo, inclusive o desenho conceitual, supervisionou e foi responsável pela revisão final do artigo.

Financiamento

Os autores gostariam de agradecer à FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processos: 2022/05122-6 e 2021/10186-0) pelo apoio financeiro.

Conflito de interesses

Os editores envolvidos na autoria desses manuscritos não tiveram participação no processo de revisão ou decisão. Todos os autores declararam que não existem relações financeiras e/ou pessoais que possam representar um potencial conflito de interesses.

References / Referências

1. Krutmann, J., Bouloc, A., Sore, G., Bernard, B. A., & Passeron, T. (2017). The skin aging exposome. *Journal of dermatological science*, 85(3), 152-161. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2016.09.015>
2. Passeron, T., Krutmann, J., Andersen, M. L., Katta, R., & Zouboulis, C. C. (2020). Clinical and biological impact of the exposome on the skin. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 34, 4-25. <https://doi.org/10.1111/jdv.16614>
3. Vineis, P., Robinson, O., Chadeau-Hyam, M., Dehghan, A., Mudway, I., & Dagnino, S. (2020). What is new in the exposome?. *Environment international*, 143, 105887. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105887>
4. Manela-Azulay, M., Mandarin-De-Lacerda, C. A., Perez, M. D. A., Filgueira, A. L., & Cuzzi, T. (2003). Vitamina C. *Anais brasileiros de dermatologia*, 78, 265-272. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962003000300002>
5. Fries, A. T., & Frasson, A. P. Z. (2010). Avaliação da atividade antioxidante de cosméticos anti-idade. *Revista Contexto & Saúde*, 10(19), 17-23. <https://doi.org/10.21527/2176-7114.2010.19.17-23>
6. Bonilha, G. C., Costa, G. M. D. & Campos, P. M. B. G. M. (2020). Rheological, texture, and sensory analyses and in vivo clinical efficacy of cosmetic formulations containing ascorbyl tetraisopalmitate. *Journal Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 17(1), 90-101. <https://doi.org/10.19277/bbr.17.1.228>
7. Campos, P. M. B. G. M., Gianeti, M. D., Camargo JR, F. B., & Gaspar, L. R. (2012). Application of tetra-isopalmitoyl ascorbic acid in cosmetic formulations: Stability studies and in vivo efficacy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 82(3), 580-586. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.08.009>
8. Jeon, J. S., Kim, H. T., Kim, M. G., Oh, M. S., Hong, S. R., Yoon, M. H., ... & Abd el-Aty, A. M. (2016). Simultaneous Detection of Glabridin, (-)- α -Bisabolol, and Ascorbyl Tetraisopalmitate in Whitening Cosmetic Creams Using HPLC-PAD. *Chromatographia*, 79, 851-860. <https://doi.org/10.1007/s10337-016-3104-2> <https://doi.org/10.1007/s10337-016-3104-2>
9. Goldberg, D. J., Mraz-Robinson, D., & Granger, C. (2020). Efficacy and safety of a 3-in-1 antiaging night facial serum containing melatonin, bakuchiol, and ascorbyl tetraisopalmitate through clinical and histological analysis. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 19(4), 884-890. <https://doi.org/10.1111/jocd.13329>
10. Narda, M., Brown, A., Muscatelli-Groux, B., Grimaud, J. A. & Granger, C. (2020). Epidermal and Dermal Hallmarks of Photoaging are Prevented by Treatment with Night Serum Containing Melatonin, Bakuchiol, and Ascorbyl Tetraisopalmitate: In Vitro and Ex Vivo Studies. *Dermatology and Therapy*, 10(1), 191-202. <https://doi.org/10.1007/s13555-019-00349-8>
11. Santos, A. C. D. D., Araújo, A. M., Rocha, B. D. O., Rocha, B. D. O., Chaves, M. F. S., & Coelho, A. G. (2019). Estudo da estabilidade de formulações de uso tópico contendo vitamina C manipulada em farmácias da cidade de Teresina-Pi/Study of the stability of topical use formulations containing vitamin C manipulated in pharmacies of the city of Teresina-Pi. *Brazilian Journal of Health Review*, Curitiba, 2(2), 756-767.
12. Aresenie, L.V., Lacatusu, I., Oprea, O., Bordei, N., Bacalum, M. & Badea, N. (2020). Azelaic acid-willow bark extract-panthenol-Loaded lipid nanocarriers improve the hydration effect and antioxidant action of cosmetic formulations. *Industrial Crops and Products*, 154, 112658. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112658>
13. Hroboňová, L. & Lomenova, A. (2020). Determination of panthenol enantiomers in cosmetic preparations using an achiral-chiral-coupled column HPLC system. *Chirality*, 32(2), 191-199. <https://doi.org/10.1002/chir.23152>
14. Shirata, M. M. F. & Campos, P. M. B. G. M. (2016). Importance of texture and sensorial profile in cosmetic formulations development. *Surgical e Cosmetic Dermatology*, 8(3), 223-230. <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.201683861>
15. Calixto, L. S. & Campos, P. M. B. G. M. (2017). Physical Mechanical characterization of cosmetic formulations and correlation between instrumental measurements and sensorial properties. *International Journal of Cosmetic Science*. 39(5), 527-534. <https://doi.org/10.1111/ics.12406>
16. Tai, A., Bianchini, R. & Jachowicz, J. (2014) Texture analysis of cosmetic/pharmaceutical raw materials and formulations. *International Journal of Cosmetic Science*, 36(4), 291-304. <https://doi.org/10.1111/ics.12125>
17. Melo, M. O. & Campos, P. M. B. G. M. (2018). Characterization of oily mature skin by biophysical and skin imaging techniques. *Skin Research and Technology*, 24(3) 386-395. <https://doi.org/10.1111/srt.12441>
18. Jumbelic, L. C., Liebel, F.T. & Southall, M. D. (2006). Establishing a minimal erythema concentration of methyl nicotinate for optimum evaluation of anti-inflammatories. *Skin Pharmacology and Physiology*, 19(3), 147-152. <https://doi.org/10.1159/000092595>
19. Ratz-Lyko, A., Arct, J. & Pytkowska, K. (2016). Moisturizing and antiinflammatory properties of cosmetic formulations containing Centella asiatica extract. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 78(1), 27-33. <https://doi.org/10.4103/0250-474x.180247>
20. Felippim, E. C., Marcato, P. D. & Campos, P. M. B. G. M. (2020). Development of Photoprotective Formulations Containing Nanostructured Lipid Carriers: Sun Protection Factor, Physical-Mechanical and Sensorial Properties. *AAPS PharmSciTech*, 21(8), 311.. <https://doi.org/10.1208/s12249-020-01858-y>
21. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. (2004). Volume 1.
22. Kakuda, L., Campos, P. M. B. G. M., Zanin, R. B., & Favaro, L. N. (2023). Development of multifunctional sunscreens: Evaluation of physico-mechanical and film-forming properties. *International Journal of Pharmaceutics*, 635, 122705. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122705>
23. Calixto, L. S.; Infante, V. H. P.; Campos, P. M. B. G. M. (2018) Design and Characterization of Topical Formulations: Correlations Between Instrumental and Sensorial Measurements. *AAPS PharmSciTech*, 19(4), 1512-1519. <https://doi.org/10.1208/s12249-018-0960-024>
24. Behera, B., Singh V. K., Kulanthaivel, S., Bhattacharya, M. K, Paramanik, K & Banerjee I. (2015). Physical and mechanical properties of sunflower oil and synthetic polymers based bigels for the delivery of nitroimidazole antibiotic—a therapeutic approach for controlled drug delivery. *European Polymer Journal*, 64, 253-264. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.01.018>
25. Marcon, A. F. V., Wagemaker, T. A., & Campos, P. M. B. G. M. (2014) Rheology, clinical efficacy and sensorial of a silicone-based formulation containing pearl extract. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 11(2), 247-255. <https://doi.org/10.19277/bbr.11.2.96>
26. Pathak, M.A. & Fitzpatrick, T.B. (1993). Preventive treatment of sunburn, dermatoheliosis and skin cancer with sun-protective agents. In Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. McGraw-Hill, New York, 1689-1717.
27. Melo, M.O. & Campos, P.M.B.G.M. (2019). Application of biophysical and skin imaging techniques to evaluate the film-forming effect of cosmetic formulations. *International Journal of Cosmetic Science*, 41(6), 579-584. <https://doi.org/10.1111/ics.12577>

28. Infante, V. H. P., Leite, M. G. A. & Campos, P.M.B.G.M. (2023). Film-Forming Properties of Topical Formulations for Skin and Hair: In Vivo and In Vitro Studies Using Biophysical and Imaging Techniques. *AAPS PharmSciTech*, 24, 29-38. <https://doi.org/10.1208/s12249-022-02472-w>
29. Andrade, J. P., Wagemaker, T. A. L., Mercurio, D. G., & Campos, P. M. B. G.M. (2018). Benefits of a dermocosmetic formulation with vitamins B3 and a B6 derivative combined with zinc-PCA for mild inflammatory acne and acne-prone skin. *Journal Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 15(2), 214-223. <https://doi.org/10.19277/bbr.15.2.188>
30. Lee, C. H., Moturi, V., e Lee, Y. (2009) Thixotropic property in pharmaceutical formulations. *Journal of Controlled Release*, 136(2), 88-98. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.02.013>
31. Chorilli, M., Campos, G. R., & Bolfarini, P. M. (2009). Desenvolvimento e estudo da estabilidade físico-química de emulsões múltiplas A/O/AEO/A/O acrescidas de filtros químicos e manteiga de karité. *Latin American Journal of Pharmacy*, 28(6), 936-40.
32. Terescenco, D., Picard, C., Clemenceau, F., Grisel, M., & Savary, G.(2018). Influence of the emollient structure on the properties of cosmetic emulsion containing lamellar liquid crystals. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 536, 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.08.017>
33. Richard, C., Tillé-Salmon, B., & Mofid, Y. (2016). Contribution to interplay between a delamination test and a sensory analysis of mid-range lipsticks. *International Journal of Cosmetic Science*, 38(1), 100-108. <https://doi.org/10.1111/ics.12242>
34. Pensé-Lhéritier, A. M. (2015). Recent developments in the sensorial assessment of cosmetic products: A review. *International Journal of Cosmetic Science*, 37(5), 465-473. <https://doi.org/10.1111/ics.12223>
35. Remane, Y., & C. S. Leopold. (2006). Time of erythema onset after application of methyl nicotinate ointments as response parameter: influence of penetration kinetics and enhancing agents. *Skin Pharmacology and Physiology*, 19(6), 303-310. <https://doi.org/10.1159/000095250>
36. Mohammed, D., Hirata, K., Hadgraft, J., & Lane, M. E. (2014). Influence of skin penetration enhancers on skin barrier function and skin protease activity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51, 118-122. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.09.009>

Topical application of a gel formulation containing Centauri® honey enhances epidermal water balance in healthy skin – data from a 28-day pilot trial

A aplicação tópica de uma formulação gel contendo mel Centauri® melhora o equilíbrio da água epidérmica na pele saudável - dados de um ensaio-piloto de 28 dias

Mariana Cariano Lopes^{1,2}, Patrícia Rijo¹ , & Luis Monteiro Rodrigues¹  

Keywords: Centauri® honey, skin physiology, epidermal hydration, barrier function, healthy skin

Palavras-chave: Mel Centauri®, fisiologia da pele, hidratação epidérmica, função de barreira, pele saudável

To Cite:

Lopes, M.C., Rijo, P., Monteiro Rodrigues, L. (2024) Topical application of a gel formulation containing Centauri® honey enhances epidermal water balance in healthy skin – data from a 28-day pilot trial. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 21(1), 43-55.

 [10.19277/bbr.21.1.346](https://doi.org/10.19277/bbr.21.1.346)

1 - CBIOS (Research Center for Biosciences and Health Technologies), Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Campo Grande 376, 1749-024 Lisboa, Portugal

2 - Curso Avançado de Medicina Estética Universidade Lusófona-SPMEC (4ª Edição)

Correspondence to / Correspondência a: monteiro.rodrigues@ulusofona.pt

Received / Recebido: 30/11/2024

Accepted / Aceite: 31/12/2024

Abstract

Honey is one of the oldest natural products applied to human skin. However, science-based evidence of some of its biological impacts are recent. Our study focuses on the impact of topically applied honey on healthy skin. To that purpose, a 28-day exploratory study was designed involving eight healthy participants of both sexes, selected following previously defined criteria. This double-blind study involved two identical formulations, where only one contained 5% (w/v) of a previously characterized honey (Centauri® honey, produced in Turkey). Formulations were applied daily (0.1 mL per application) for twenty-eight days (D0–D28) of regular use. Compliance was regularly verified by the investigators. Measured outcomes were “epidermal” barrier quantified by evaporimetry and epidermal hydration measured by electrometric techniques. Results demonstrated that at the end of the study period, the formulation with honey significantly reduced trans-epidermal water loss while improving both superficial and deep hydration of the skin as compared to the respective controls at D0. Similar favorable results were also obtained with the same formulation after a challenge test using tape-stripping. These results confirm the interest of this ingredient in skin health, even in healthy participants, that should be further explored.

Resumo

O mel é um dos mais antigos produtos naturais aplicados na pele humana. No entanto, as provas científicas de alguns dos seus impactos biológicos são recentes. O nosso estudo incide sobre o impacto do mel aplicado topicamente numa pele saudável. Para o efeito, foi concebido um estudo exploratório de 28 dias que envolveu oito participantes saudáveis de ambos os sexos, selecionados de acordo com critérios previamente definidos. Este estudo duplamente cego envolveu duas formulações idênticas, sendo que apenas uma continha 5% (p/v) de um mel previamente caracterizado (mel Centauri® Turquia). As formulações foram aplicadas diariamente (0,1 ml por aplicação) durante vinte e oito dias (D0-D28) de utilização regular. A conformidade foi verificada regularmente pelos investigadores. Os resultados medidos foram a barreira "epidérmica" quantificada por evaporimetria e a hidratação epidérmica medida por técnicas electrométricas. Os resultados demonstraram que, no final do período de estudo, a formulação com mel reduziu significativamente a perda de água transepidérmica e melhorou a hidratação superficial e profunda da pele, em comparação com os respectivos controlos no D0. Resultados favoráveis semelhantes também foram obtidos com a mesma formulação após um teste de stress usando fita adesiva. Estes resultados confirmam o interesse deste ingrediente na saúde da pele, mesmo em participantes saudáveis, aspecto que deve ser mais explorado.

Introduction

Natural products have been used as healing agents for thousands of years in human history, progressively selected by traditional medicine and ethno-pharmacology to improve their applicability regarding its capacity and specificities. Currently, natural products represent the most important source of new therapeutic molecules with potential interest for human needs (1-3).

The skin has been a major target for this development specially during the last two centuries (1,4). Recent reviews have shown evidence of specific properties such as wound healing, anti-inflammatory, and anti-allergic for many molecules of natural origin (1-4). However, science-based evidence to support many of the allegations attributed to the natural products by traditional medicine and ethno-pharmacology is limited.

Honey is likely one of the oldest natural products used by man as a nutrient, but also as an ingredient and vehicle in multiple therapeutic applications (5). It is considered a nutritious and healthy food, although its chemical composition greatly depends on its botanical and geographical origin. Honey is mainly composed of a mixture of different sugars, water and proteins, but it also contains enzymes, organic acids, vitamins, minerals and phenolic compounds in smaller quantities which contribute to its sensorial and functional characteristics (6). Antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial and healing properties have been linked to the use of honey, which has contributed to the increased interest in this nutrient as food (6).

Honey has been known for its skin healing capacities for more than 4000 years. It has been recommended to treat wounds, partial thickness burn wounds in particular, however, its effectiveness in the treatment of non-burn acute wounds and chronic wounds burns as other skin conditions is still conflicting (5,7-9). A few recent Cochrane reviews underscored these findings (9,10). Several honey-based products have been approved for medical use and are currently available on the market with different indications, which give us an idea of the relevance and utility of honey in wound healing (5,11).

Introdução

Os produtos naturais têm sido utilizados há milhares de anos na história da humanidade, como agentes curativos, progressivamente selecionados pela medicina tradicional e pela etnofarmacologia para melhorar a sua aplicabilidade no que diz respeito às suas capacidades e especificidades. Atualmente, os produtos naturais representam a fonte mais importante de novas moléculas terapêuticas com potencial interesse para utilização humana (1-3).

A pele tem sido um dos principais alvos deste desenvolvimento, especialmente durante os últimos dois séculos (1,4). Revisões recentes mostraram provas de propriedades específicas, como a cicatrização de feridas, propriedades anti-inflamatórias e anti-alérgicas para muitas moléculas de origem natural (1-4). No entanto, as provas científicas que sustentam muitas das alegações atribuídas a produtos naturais pela medicina tradicional e pela etnofarmacologia são limitadas.

O mel é provavelmente um dos produtos naturais mais antigos utilizados pelo homem como nutriente, mas também como ingrediente e veículo em múltiplas aplicações terapêuticas (5). É considerado um alimento nutritivo e saudável, embora a sua composição química dependa muito da sua origem botânica e geográfica. O mel é composto principalmente por uma mistura de diferentes açúcares, água e proteínas, mas também contém enzimas, ácidos orgânicos, vitaminas, minerais e compostos fenólicos em quantidades menores que contribuem para as suas características sensoriais e funcionais (6). As propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e cicatrizantes associadas à utilização do mel, tem contribuído para o aumento do interesse por este nutriente como alimento (6).

O mel é conhecido pelas suas capacidades de cicatrização da pele há mais de 4000 anos. Tem sido recomendado para o tratamento de feridas, em particular de queimaduras de espessura parcial. No entanto, a sua eficácia no tratamento de outras feridas agudas e de feridas crônicas, bem como de outras afecções cutâneas, continua a ser contraditória (5,7-9). Algumas revisões Cochrane recentes sublinharam estas conclusões (9,10). Vários produtos à base de mel foram aprovados para utilização médica e estão atualmente disponíveis no mercado com diferentes indicações, o que nos dá uma ideia da relevância e utilidade do mel na cicatrização de feridas (5,11).

The physicochemical nature of honey makes it an ideal wound dressing, capable of hydrating injured tissues while fighting microbial infections and reducing inflammation. Much of the literature on the healing properties of honey has focused its antiseptic effects. A few reviews have shown consistent evidence of moisturizing, antimicrobial, nourishing and pH-regulating properties in topically applied honey in vivo (5,9,10,12,15,16), which confirms its particular interest in terms of skin care. Other in vitro studies demonstrated that honey can promote angiogenesis, granulation and epithelialization, stimulating lymphocytes and phagocytes, inducing the expression of molecular markers of tissue repair and triggering the epithelial-mesenchymal transition in keratinocytes (5,7,9,13,16,17). Honey-induced wound repair has been attributed to the activation of cell proliferation regulatory pathways, leading to the re-epithelialization of keratinocytes (11,14,17). Manuka honey was recently referred to decrease eosinophilic activation, improve erythema, edema and excoriation in patients with atopic dermatitis (5,7,9,15) but many other varieties and origins have been disclosed.

The interesting properties traditionally associated with honey, especially regarding its skin repair capacities, indicate that honey has an enormous potential for application in aesthetic and cosmetic medicine. However, there is still some lack of objective evidence to support many of these allegations. The biological potential of Centauri® honey, a well-known product produced in Turkey, has been recently characterized (18) and facilitated our approach on the impact of topical application of a gel containing honey on human skin in healthy participants. With this study we expect to expand scientific knowledge regarding the effects of honey on skin repair while promoting evidence-based research in the field of aesthetic and cosmetic medicine.

Material and Methods

Honey

A commercially available sample of Centauri® Honey, produced from remote alpine regions in Turkey, was used for this study. The honey is produced by bees that inhabit isolated caves with access to special endemic flowers year-round, promoting a unique

A natureza físico-química do mel torna-o um penso ideal para feridas, capaz de hidratar os tecidos lesionados, ao mesmo tempo que combate as infecções microbianas e reduz a inflamação. Grande parte da literatura sobre as propriedades curativas do mel tem-se centrado nos seus efeitos anti-sépticos. Algumas revisões mostraram evidências consistentes de propriedades hidratantes, antimicrobianas, nutritivas e reguladoras de pH no mel topicamente aplicado in vivo (5,9,10,12,15,16), o que confirma o seu interesse em termos de cuidados com a pele. Outros estudos in vitro demonstraram que o mel pode promover a angiogénese, a granulação e a epitelização, estimulando os linfócitos e os fagócitos, induzindo a expressão de marcadores moleculares de reparação dos tecidos e desencadeando a transição epitelial-mesenchimal nos queratinócitos (5,7,9,13,16,17). A reparação de feridas induzida pelo mel tem sido atribuída à ativação de vias reguladoras da proliferação celular, levando à reepitelização dos queratinócitos (11,14,17). O mel de Manuka foi recentemente referido como diminuindo a ativação eosinofílica, melhorando o eritema, o edema e a escoriação em doentes com dermatite atópica (5,7,9,15), mas muitas outras variedades e origens foram divulgadas.

As propriedades interessantes tradicionalmente associadas ao mel, especialmente no que respeita às suas capacidades de reparação da pele, indicam que o mel tem um enorme potencial de aplicação na medicina estética e cosmética. No entanto, há ainda alguma falta de demonstração objectiva que suporte muitas destas alegações. O potencial biológico do mel Centauri®, um conhecido produto produzido na Turquia, foi recentemente caracterizado (18) e facilitou a nossa abordagem sobre o impacto da aplicação tópica de um gel contendo mel na pele humana em participantes saudáveis. Com este estudo, esperamos alargar o conhecimento científico sobre os efeitos do mel na fisiologia da pele, promovendo simultaneamente a investigação baseada em provas no domínio da medicina estética e cosmética.

Material e métodos

Mel

Para este estudo, foi utilizada uma amostra comercialmente disponível do mel Centauri®, produzido em regiões alpinas remotas da Turquia. O mel é produzido por abelhas que habitam grutas

product already characterized in terms of quality, physicochemical properties, nutritional parameters and biological potential (18).

Formulation

The base formulation (excipient) chosen was a gel, involving honey, glycerin (José M. Vaz Pereira, Benavente, Portugal), disodium ethylene-diamine-tetra-acetate (Saninter, Lisbon, Portugal) and a paraben preservative solution based on methylparaben (6% w/w, AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany) and propylparaben (3% w/w, José M. Vaz Pereira, Benavente, Portugal) in propylene glycol (LABCHEM, Santo Antão do Tojal, Portugal). The polymer (Carbopol® 940, José M. Vaz Pereira, Benavente, Portugal) was diluted in distilled water and left to hydrate and expand before adding the previously prepared mixture. Triethanolamine (José M. Vaz Pereira, Benavente, Portugal) was added under stirring until obtaining a viscous and homogeneous gel with a pH value of 4.6 ± 0.1 . The honey concentration in the formulation was 5%. A control gel was likewise prepared without the addition of honey.

Participants

The study was conducted on a sample of healthy participants of both sexes ($n=8$, 5 women and 3 men, mean age 42.26 ± 11.5 years) recruited at our university center. Preliminary selection requirements applied to all participants were (i) being over 18 years old (ii) absence of any health problem, including skin lesions at application sites and (iii) no history of any specific response to topical products.

All experimental procedures, previously evaluated by the institutional Ethics Committee, respected the principles of good clinical practice established in the Declaration of Helsinki and its subsequent amendments (19) and included a written informed consent obtained from all participants.

Protocol

The safety profile of the formulation was previously confirmed by our research group using a modified open patch test version involving a single application and monitoring to detect any skin reaction within 48 hours of application (20).

isoladas com acesso a flores endêmicas especiais durante todo o ano, promovendo um produto único já caracterizado em termos de qualidade, propriedades físico-químicas, parâmetros nutricionais e potencial biológico (18).

Formulação

A formulação base (excipiente) escolhida foi um gel, envolvendo mel, glicerina (José M. Vaz Pereira, Benavente, Portugal), etileno-diamina-tetra-acetato dissódico (Saninter, Lisboa, Portugal) e uma solução conservante de parabens à base de metilparabeno (6% p/p, AppliChem GmbH, Darmstadt, Alemanha) e propilparabeno (3% p/p, José M. Vaz Pereira, Benavente, Portugal) em propilenoglicol (LABCHEM, Santo Antão do Tojal, Portugal). O polímero (Carbopol® 940, José M. Vaz Pereira, Benavente, Portugal) foi diluído em água destilada e deixado a hidratar e expandir antes de adicionar a mistura previamente preparada. Adicionou-se trietanolamina (José M. Vaz Pereira, Benavente, Portugal) sob agitação até se obter um gel viscoso e homogêneo com um valor de pH de $4,6 \pm 0,1$. A concentração de mel na formulação foi de 5%. Foi igualmente preparado um gel de controlo sem a adição de mel.

Participantes

O estudo foi realizado numa amostra de participantes saudáveis de ambos os sexos ($n=8$, 5 mulheres e 3 homens, idade média de $42,26 \pm 11,5$ anos) recrutados no nosso centro universitário. Os requisitos de seleção preliminares aplicados a todos os participantes foram (i) ter mais de 18 anos de idade, (ii) ausência de qualquer problema de saúde, incluindo lesões cutâneas nos locais de aplicação e (iii) ausência de história de qualquer resposta específica a produtos tópicos.

Todos os procedimentos experimentais, previamente avaliados pelo Comité de Ética institucional, respeitaram os princípios de boas práticas clínicas estabelecidos na Declaração de Helsínquia e suas alterações subsequentes (19) e incluíram um consentimento informado por escrito obtido de todos os participantes.

Protocolo

O perfil de segurança da formulação foi previamente confirmado pelo nosso grupo de investigação, utilizando uma versão modificada de teste de adesivo aberto, envolvendo uma única aplicação e monitorização para detetar qualquer reação cutânea nas 48 horas seguintes à aplicação (20).

After inclusion, participants were asked not to apply any cosmetics or any other topical products to the test areas 48 hours before the start of the study (D0) and on the last day of intervention (D28). The study was designed for 28 days (D0–D28) with daily applications of 0.1 mL, with a syringe, with two coded formulations - one with the gel vehicle, and the other with the gel vehicle with 5% (w/v) honey

Three areas (3 cm²) were drawn on each participant's forearm and application sites were chosen randomly for each participant using the Latin square procedure. Empty site 1 corresponded to the negative control, site 2 to the gel vehicle and site 3 to the bioactive corresponding to the gel vehicle with 5% honey (Figure 1).

The first application took place in the laboratory with the investigator (PI), who explained all the steps and illustrated the procedure of the topical application of each formulation. Each volunteer also received a simplified graphic representation of the topical application sequence to be followed once a day at home. The PI regularly confirmed participant compliance by telephone. During the study period, participants were instructed not to apply detergents, emollients, moisturizers or any cosmetics to the tested sites on both forearms.

Após a inclusão, foi pedido aos participantes que não aplicassem quaisquer cosméticos ou outros produtos tópicos nas áreas de teste 48 horas antes do início do estudo (D0) e no último dia de intervenção (D28). O estudo foi concebido para 28 dias (D0-D28) com aplicações diárias de 0,1 ml, com uma seringa, com duas formulações codificadas - uma com o veículo gel, e a outra com o gel adicionado de 5% (p/v) de mel

Foram desenhadas três áreas (3 cm²) no antebraço de cada participante e os locais de aplicação foram escolhidos aleatoriamente para cada participante utilizando o procedimento do quadrado latino. O local vazio 1 correspondia ao controlo negativo, o local 2 ao veículo gel e o local 3 ao bioativo correspondente ao veículo gel com 5% de mel (Figura 1).

A primeira aplicação teve lugar no laboratório com o investigador principal (IP), que explicou todos os passos e ilustrou o procedimento de aplicação tópica de cada formulação. Cada voluntário recebeu também uma representação gráfica simplificada da sequência de aplicação tópica a seguir uma vez por dia. O IP confirmava regularmente, por telefone, a adesão dos participantes. Durante o período do estudo, os participantes foram instruídos a não aplicar detergentes, emolientes, hidratantes ou quaisquer cosméticos nos locais testados em ambos os antebraços.

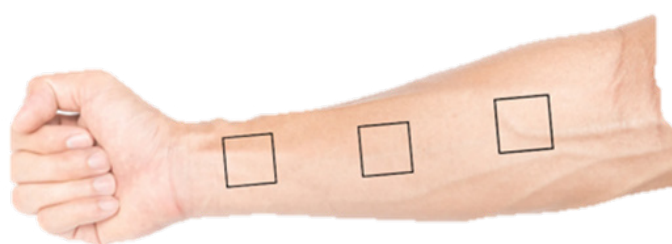


Figure 1 - Graphical representation of the study design. The sites were marked on the arm and the formulations (see text) in a random sequence using the Latin square. The application at site 1 was left empty to match the negative control. Measurements occurred at each site before and after completing the intervention protocol. After the last day's measurements, a biopsy of the skin surface was performed by tape stripping and physiological variables were measured immediately after the procedure (see text).

Figura 1 - Representação gráfica do desenho do estudo. Os locais foram marcados no braço e as formulações (ver texto) numa sequência aleatória utilizando o quadrado latino. A aplicação no local 1 foi deixada em branco para corresponder ao controlo negativo. As medições foram efectuadas em cada local antes e depois da conclusão do protocolo de intervenção. Após as medições do último dia, foi efectuada uma biópsia da superfície da pele através de uma fita adesiva e as variáveis fisiológicas foram medidas imediatamente após o procedimento (ver texto).

Skin physiology was characterized by non-invasive technologies. All measurements took place in the same laboratory under controlled conditions (relative humidity 50+ 2% and temperature 22 ± 2 °C) and were obtained by the same operator. Measurements took place on the day of inclusion (D0) and after 28 days of starting intervention with both formulations (D28).

The variables considered most important to represent skin physiology were the following:

- Transepidermal water loss (TEWL), the most important indicator of the epidermal barrier (21) using the Tewameter TM300® (CK Electronics, Cologne, Germany) (22),
- Epidermal, superficial and deep hydration using MoistureMeterSC (Delfin Technologies, Finland), and MoistureMeterD (Delfin Technologies, Kuopio, Finland) respectively; these systems are based on the assessment of epidermal capacitance and are widely applied for these purposes (23).

In order to identify a potential protective effect associated with the regular use of the formulations under study, a tape stripping stress test was conducted two days after the end of the 28-day intervention (D30). This approach uses standard adhesive tape to stick-to-peel the skin repeatedly (30 times) at all tested sites (23,24). This procedure is easy to perform and does not cause discomfort to the patient, providing a controlled in-depth assessment of in vivo epidermis. Measurements of TEWL and epidermal hydration capacitance (as above) were made before and after the stress test.

Statistical Analysis

Data are presented as mean values \pm standard deviation (SD) from three independent replicates ($n = 3$). A Kolmogorov-Smirnov test was performed to assess normality. For statistical comparisons, we applied one-way analysis of variance (ANOVA) for repeated measures to detect differences between various groups, followed by Tukey's post hoc test to identify specific differences between groups. All statistical analyzes were performed using Jamovi® (version 2.2, The Jamovi Project, Sydney, Australia) and GraphPad® Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

The significance level was set at $p < 0.05$.

A fisiologia da pele foi caracterizada por tecnologias não invasivas. Todas as medições tiveram lugar no mesmo laboratório em condições controladas (humidade relativa 50+ 2% e temperatura 22 ± 2 °C) e foram obtidas pelo mesmo operador. As medições foram efectuadas no dia da inclusão (D0) e após 28 dias do início da intervenção com ambas as formulações (D28).

As variáveis consideradas mais importantes para representar a fisiologia da pele foram as seguintes

- Perda de água transepidérmica (TEWL), o indicador mais importante da barreira epidérmica (21), utilizando o Tewameter TM300® (CK Electronics, Colónia, Alemanha) (22),
- Hidratação epidérmica, superficial e profunda utilizando, respetivamente, o MoistureMeterSC (Delfin Technologies, Finlândia) e o MoistureMeterD (Delfin Technologies, Kuopio, Finlândia); estes sistemas baseiam-se na avaliação da capacitância epidérmica e são amplamente utilizados para estes fins (23);

A fim de identificar um potencial efeito protetor associado à utilização regular das formulações em estudo, foi realizado um teste de stress com fita adesiva dois dias após o final da intervenção de 28 dias (D30). Esta abordagem utiliza uma fita adesiva padrão para aderir á superfície da pele e ser removida de seguida, de forma repetida (30 vezes) em todos os locais testados (23,24). Este procedimento é fácil de executar e não causa desconforto ao doente, proporcionando uma exploração controlada e aprofundada da epiderme in vivo. As medições da TEWL e da hidratação epidérmica foram efectuadas antes e depois do teste de esforço.

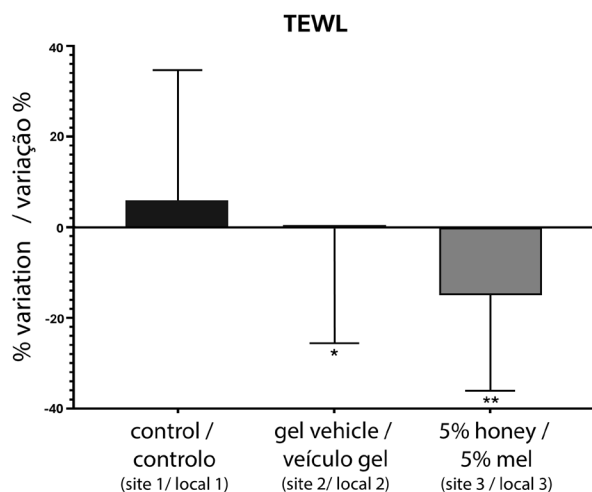
Análise estatística

Os dados são apresentados como valores médios \pm desvio padrão (DP) de três réplicas independentes ($n = 3$). Foi efectuado um teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a normalidade. Para comparações estatísticas, aplicámos uma análise de variância de uma via (ANOVA) para medidas repetidas para detetar diferenças entre vários grupos, seguida do teste post hoc de Tukey para identificar diferenças específicas entre grupos. Todas as análises estatísticas foram realizadas com Jamovi® (versão 2.2, The Jamovi Project, Sydney, Austrália) e GraphPad® Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$.

Results

After twenty-eight days of regular (daily) use of the formulations under study, we observed clear evidence of the impact of this intervention on the dynamics of epidermal water balance. Figure 2 shows the differences between day 0 and day 28 of the TEWL, a primary indicator of epidermal barrier function. Although no difference was detected for site 1, corresponding to the empty site, significant decreases in TEWL were observed in all participants at sites 2 and 3 ($p < 0.05$ and $p < 0.005$ respectively), being particularly marked at site 3, corresponding to the honey formulation.



Resultados

Após vinte e oito dias de utilização regular (diária) das formulações em estudo, observámos evidências claras do impacto desta intervenção na dinâmica do balanço hídrico epidérmico. A Figura 2 mostra as diferenças entre o dia 0 e o dia 28 da TEWL, um indicador primário da função de barreira epidérmica. Embora não tenha sido detectada qualquer diferença para o local 1, correspondente ao local vazio, foram observadas diminuições significativas na TEWL em todos os participantes nos locais 2 e 3 ($p < 0,05$ e $p < 0,005$, respetivamente), sendo particularmente acentuadas no local 3, correspondente à formulação de mel.

Figure 2 - Differences in TEWL observed between day 0 and after 28 days of topical application of these study formulations (see text). As shown, the differences are pronounced at the site corresponding to the honey formulation (* $p < 0.05$; ** $p < 0.005$).

Figura 2 - Diferenças na TEWL observadas entre o dia 0 e após 28 dias de aplicação tópica das formulações estudadas (ver texto). Como se pode ver, as diferenças são mais acentuadas no local correspondente à formulação com mel (* $p < 0,05$; ** $p < 0,005$).

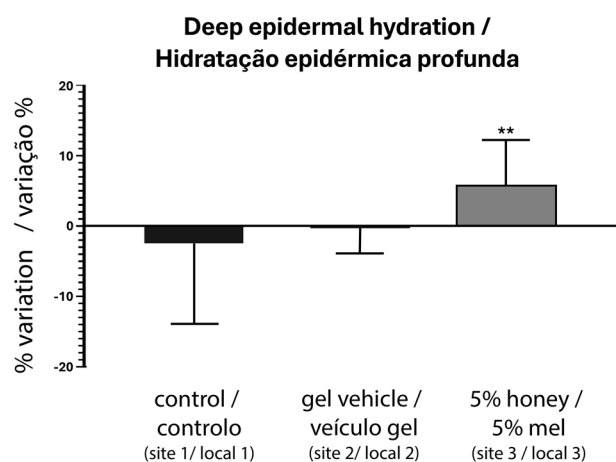
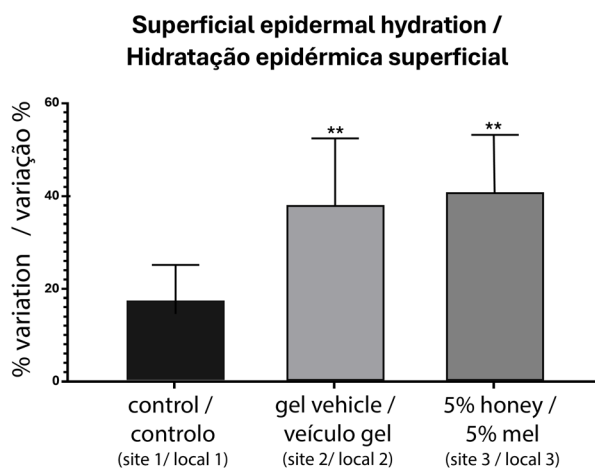


Figure 3 - Differences in superficial and deep hydration measured by the electrometric method (capacitance) recorded between day 0 and after 28 days of topical application of the formulations under study (see text). As demonstrated in both cases, the differences are clearly pronounced in the site corresponding to the formulation with honey (** $p < 0.005$).

Figura 3 - Diferenças de hidratação superficial e profunda medidas pelo método eletrométrico (capacitância) registadas entre o dia 0 e após 28 dias de aplicação tópica das formulações em estudo (ver texto). Como demonstrado em ambos os casos, as diferenças são claramente acentuadas no local correspondente à formulação com mel (** $p < 0,005$).

In line with these observations, epidermal hydration showed the same evolution. Similar significant differences between day 0 and day 28 were found for both formulations ($p < 0.005$), while no differences were detected at the negative control site (Figure 3). However, only the areas treated with the honey formulation showed very significant differences in terms of deep hydration of the epidermis (Figure 3).

We also tested the impact of these formulations on skin water dynamics by applying a tape-stripping stress test also known as skin surface biopsy - to the treated sites. This procedure has long been used to collect samples of the epidermis, primarily with

De acordo com estas observações, a hidratação epidérmica registou a mesma evolução. Foram encontradas diferenças significativas semelhantes entre o dia 0 e o dia 28 para ambas as formulações ($p < 0,005$), não tendo sido detectadas diferenças no local do controlo negativo (Figura 3). No entanto, apenas as zonas tratadas com a formulação de mel apresentaram diferenças muito significativas em termos de hidratação profunda da epiderme (Figura 3).

Também testámos o impacto destas formulações na dinâmica da água da pele, aplicando um teste de stress com fita adesiva - também conhecido como biopsia da superfície da pele - nos locais tratados. Este procedimento tem sido utilizado há muito tempo

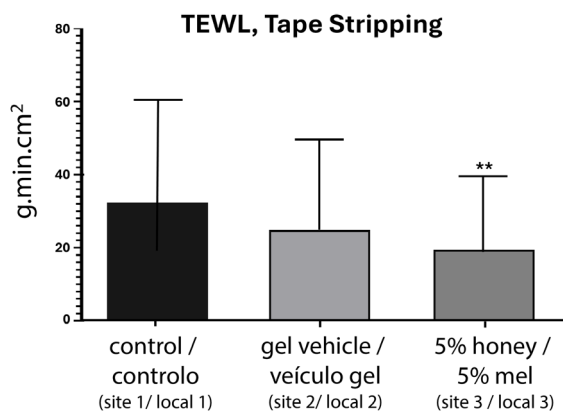


Figure 4 - TEWL measurement at D30 at each tested site after stripping with tape (see text). As demonstrated, the site treated with the 5% honey formulation presents lower TEWL values, likely related to a potential effect on epidermal cohesion. (** $p < 0.005$).

Figura 4 - Medição da TEWL em D30 em cada local testado após a remoção com fita adesiva (ver texto). Como demonstrado, o local tratado com a formulação de mel a 5% apresenta valores mais baixos de TEWL, provavelmente relacionados com um potencial efeito na coesão epidérmica. (** $p < 0,005$).

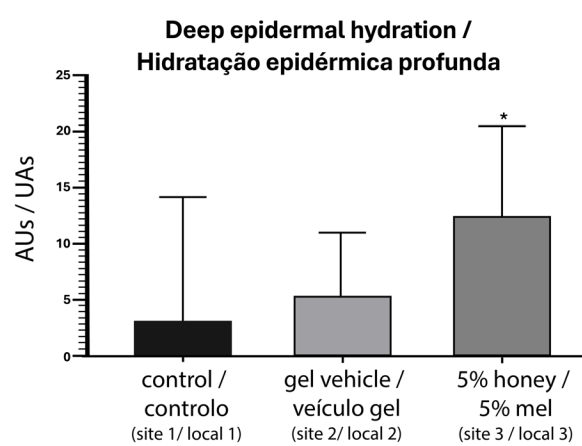
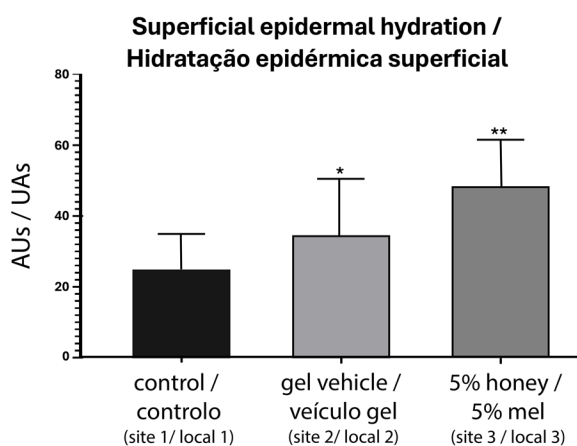


Figure 5 - Differences in surface and deep hydration measured at D30 by the electrometric method (capacitance) after stripping with adhesive tape. As demonstrated in both cases, the differences are clearly pronounced in the site corresponding to the formulation with honey (* $p < 0.05$; ** $p > 0.005$)

Figura 5 - Diferenças de hidratação superficial e profunda medidas em D30 pelo método eletrométrico (capacitância) após decapagem com fita adesiva. Como demonstrado em ambos os casos, as diferenças são claramente acentuadas no local correspondente à formulação com mel (* $p < 0,05$; ** $p > 0,005$)

diagnostic purposes; however, its experimental potential has been recently indicated for other applications, including research (24,25). It was recently demonstrated that a 30x repeated stripping procedure removes no more than 30% of the epidermal layer (24). After removal (Figure 4), both the empty site and the site treated with the formulation vehicle showed high TEWL values that were similar between the sites and not significantly different from the TEWL values obtained before stripping. However, the TEWL values obtained at the site treated with the honey formulation (site 3) were significantly lower ($p < 0.005$) than at sites 1 and 2 (Figure 4).

In line with these results, data from the compared epidermal hydration capacitance analysis after stripping in all sites confirmed that this site treated with the 5% honey formulation showed significantly higher levels of both superficial and deep hydration. (Figure 5).

Discussion

The objective of this study was to evaluate the impact resulting from the application of honey as a natural bioactive in a gel formulation on healthy human skin for twenty-eight days. The formulation's primary safety was previously confirmed (20).

After twenty-eight days of regular (daily) use of the formulations under study, we observed a significant decrease in TEWL where formulations were applied (sites 2 and 3) (Figure 2). However, this reduction was particularly noted in the site corresponding to the formulation with honey ($p < 0.005$). No differences were detected at the empty site (no formulation, site 1).

Regarding hydration, the regular application of both formulations significantly increased epidermal surface hydration ($p < 0.005$) compared to D0, in contrast to the negative control. However, the site treated with the honey formulation also showed a significant increase in deep hydration ($p < 0.005$), distinct from the other two sites (Figure 3).

Although we cannot explain the mechanisms behind these apparently related findings, the high sugar content allowing the formation of hydrogen bonds with water may explain the increase in water in the more superficial epidermis (6,8,12). As we noticed,

para recolher amostras da epiderme, principalmente para fins de diagnóstico; no entanto, o seu potencial experimental foi recentemente indicado para outras aplicações, incluindo a investigação (24,25). Foi recentemente demonstrado que um procedimento de stripping repetido 30x não remove mais de 30% da camada epidérmica (24). Após a remoção (Figura 4), tanto o local vazio como o local tratado com o veículo da formulação apresentaram valores elevados de TEWL que eram semelhantes entre os locais e não significativamente diferentes dos valores de TEWL obtidos antes da remoção. No entanto, os valores de TEWL obtidos no local tratado com a formulação de mel (local 3) foram significativamente menores ($p < 0,005$) do que nos locais 1 e 2 (Figura 4).

Em conformidade com estes resultados, os dados da análise da capacidade de hidratação epidérmica comparada após a decapagem em todos os locais confirmaram que este local tratado com a formulação de mel a 5% apresentava níveis significativamente mais elevados de hidratação superficial e profunda. (Figura 5).

Discussão

O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto resultante da aplicação do mel como bioativo natural numa formulação em gel na pele humana saudável durante vinte e oito dias. A segurança primária da formulação foi previamente confirmada (20).

Após vinte e oito dias de uso regular (diário) das formulações em estudo, observou-se uma diminuição significativa da TEWL nos locais onde as formulações foram aplicadas (locais 2 e 3) (Figura 2). No entanto, esta diminuição foi particularmente notada no local correspondente à formulação com mel ($p < 0,005$). Não foram detectadas diferenças no local vazio (sem formulação, local 1).

Em relação à hidratação, a aplicação regular de ambas as formulações aumentou significativamente a hidratação da superfície epidérmica ($p < 0,005$) em comparação com o D0, em contraste com o controlo negativo. No entanto, o local tratado com a formulação de mel também apresentou um aumento significativo na hidratação profunda ($p < 0,005$), diferente dos outros dois locais (Figura 3).

Embora não possamos explicar os mecanismos por detrás destes resultados aparentemente relacionados, o elevado teor de açúcar que permite a formação de ligações de hidrogénio com a água pode explicar o aumento de água na epiderme mais superficial

the hydration increase reaches the deeper epidermis. More water in the intercellular spaces, potentially caused by the high osmotic pressure of honey sugars, reinforces the hydrolipidic mantle and facilitates the diffusion of other elements (proline, gluconic acid, for example) through the membranes as it penetrates deeper into the skin (7,9, 14,26-29). However, these effects seem to reveal an unexpected increase in the reinforcement of epidermal cohesion and/or vitality. Although these cannot be exclusively attributed to honey, as they are also observed only with the vehicle (gel-free formulation), to the effects are increased in the presence of honey. The reinforcement of epidermal hydration, mainly attributable to sugars and osmosis, would lead us to expect an increase in TEWL due to the evaporation of free water on the surface of the skin. However, not only does TEWL decrease, but there is also an increase in hydration in the deeper layers of the epidermis (Figure 3), which brings us to the cell proliferation and skin re-epithelialization properties that are still poorly understood but have long been attributed to honey (14,15,26-29).

The stripping test is a very moderate controlled experimental approach to a tissue under stress. It aims to mimic a compromised epidermis, with the purpose of observing whether the impact of applying the honey formulation to the skin surface still involves some protective effect. Recalling the data previously reported on the very significant reduction in TEWL in the treated areas, especially regarding the honey gel, and the increase in superficial and deep hydration of the epidermis in all treated areas, we observed that the honey formulation site after tape stripping presented significantly higher hydration levels than the remaining sites, including the vehicle without honey (Figure 5). Regarding superficial hydration, the site treated with the vehicle still showed significantly higher hydration than the negative control, but only the site treated with the honey formulation showed deep hydration significantly different from the others (Figure 5). These data corroborate the above observations, since the controlled removal of a portion of the stratum corneum not only reduces the amount of water retained in the most superficial epidermis but also facilitates the measurement of deeper water which, as we have seen, was significantly increased with the formulation with honey.

(6,8,12). Como observamos, o aumento da hidratação atinge a epiderme mais profunda. A presença de mais água nos espaços intercelulares, potencialmente causada pela elevada pressão osmótica dos açúcares do mel, reforça o manto hidrolipídico e facilita a difusão de outros elementos (prolina, ácido glucônico, por exemplo) através das membranas à medida que se penetra mais profundamente na pele (7,9, 14,26-29). No entanto, estes efeitos parecem revelar um aumento inesperado do reforço da coesão epidérmica e/ou da sua vitalidade. Embora estes efeitos não possam ser atribuídos exclusivamente ao mel, uma vez que são igualmente observados apenas com o veículo (formulação sem gel), os seus efeitos são reforçados na presença do mel. O reforço da hidratação epidérmica, principalmente atribuível aos açúcares e à osmose, levar-nos-ia a esperar um aumento da TEWL devido à evaporação da água livre na superfície da pele. No entanto, não só a TEWL diminui, como também se regista um aumento da hidratação nas camadas mais profundas da epiderme (Figura 3), o que nos leva às propriedades de proliferação celular e de reepitelização da pele, ainda mal compreendidas, mas há muito atribuídas ao mel (14,15,26-29).

O teste de stripping é uma abordagem experimental controlada e muito moderada de um tecido sob stress. Tem como objetivo mimetizar uma epiderme comprometida, afim de observar se o impacto da aplicação na superfície da pele da formulação com mel ainda envolve algum efeito protetor. Relembrando os dados anteriormente reportados sobre a redução muito significativa da TEWL nas áreas tratadas, especialmente no que diz respeito ao gel com mel, e o aumento da hidratação superficial e profunda da epiderme em todas as áreas tratadas, observamos que o local da formulação com mel apresentou após stripping níveis de hidratação significativamente mais elevados do que os restantes locais, incluindo o veículo sem mel (Figura 5). Em relação à hidratação superficial, o local tratado com o veículo ainda apresentou hidratação significativamente maior que o controle negativo, mas apenas o local tratado com a formulação de mel apresentou hidratação profunda significativamente diferente dos demais (Figura 5). Estes dados corroboram as observações anteriores, uma vez que a remoção controlada de uma porção do estrato córneo não só reduz a quantidade de água retida na epiderme mais superficial como também facilita a medição da água mais profunda que, como vimos, foi significativamente aumentada com a formulação com mel.

To the best of our knowledge, these findings are original as this effect of reinforcing epidermal water dynamics in vivo, producing a high water content environment with reduced TEWL directly impacting the deepest epidermal layers, has not been previously described. In our opinion, this effect seems to be attributable to honey and its impact on epidermal cohesion, and therefore to be related to the strengthening of the epidermal barrier, even in healthy individuals. More data is necessary to experimentally confirm these claims.

The small number of participants is admittedly an objective limitation of our study, although it was exploratory by design. Our choice of a single type of honey for this trial was also deliberate, based on the results of a previous study (18). However, this is one of the first studies evaluating the impact of a topical formulation with honey carried out in healthy humans to test its physiological impact, revealing properties that appear more complex and promising than we assumed, even in healthy individuals. In any case, it is a data-driven scientific investigation of value and interest to be continued and expanded, also in disease, to increase our knowledge and capacity for intervention in aesthetic and cosmetic medicine.

Conclusion

The present work offers a new look into the mechanisms involved in the hydration capacities of topically applied formulations containing honey, recommending further studies in this direction.

Author contributions

M.C. performed the experimental investigation, analyzed data and wrote the manuscript; P.R. supplied the bioactive and related research; L.M.R. was responsible for the concept and design of the study, writing and revising the manuscript's final version. All authors approved the final submitted version.

Tanto quanto sabemos, estes resultados são originais, uma vez que este efeito de reforço da dinâmica da água epidérmica in vivo, produzindo um ambiente de elevado teor de água com uma TEWL reduzida com impacto direto nas camadas epidérmicas mais profundas, não foi descrito anteriormente. Na nossa opinião, este efeito parece ser atribuível ao mel e ao seu impacto na coesão epidérmica e, por conseguinte, estar relacionado com o reforço da barreira epidérmica, mesmo em indivíduos saudáveis. São necessários mais dados para confirmar experimentalmente estas afirmações.

O número reduzido de participantes é, sem dúvida, uma limitação objetiva do nosso estudo, embora se trate de um estudo exploratório. A escolha de um único tipo de mel para este estudo também foi deliberada, com base nos resultados de um estudo anterior (18). No entanto, este é um dos primeiros estudos de avaliação do impacto de uma formulação tópica com mel realizado em seres humanos saudáveis para testar o seu impacto fisiológico, revelando propriedades que parecem mais complexas e promissoras do que supúnhamos, mesmo em indivíduos saudáveis. Em todo o caso, trata-se de uma investigação de valor e interesse, baseada em dados, cientificamente validados, que deve ser continuada e alargada, também na doença, para aumentar o nosso conhecimento e capacidade de intervenção na medicina estética e cosmética.

Conclusão

O presente trabalho oferece um novo olhar sobre os mecanismos envolvidos nas capacidades de hidratação de formulações de aplicação tópica contendo mel, recomendando mais estudos nesta direção.

Contribuições dos autores

M.C. realizou a investigação experimental, analisou os dados e redigiu o manuscrito; P.R. forneceu o bioativo e investigação relacionada; L.M.R. foi responsável pela conceção e desenho do estudo, redação e revisão da versão final do manuscrito. Todos os autores aprovaram a versão final submetida

Funding

The funding for this research was provided by national funds through the Foundation for Science and Technology, I.P. (Portugal), specifically under the projects with DOIs 10.54499/UIDP/04567/2020 and 10.54499/UIDB/04567/2020.

Acknowledgements

The authors would like to express their thanks to Sergio Andrade and to all participants in the study.

Conflict of interest

The editors involved in this manuscript's authorship had no participation in the review or decision process. All authors have stated that there are no financial and/or personal relationships that could represent a potential conflict of interest.

Financiamento

O financiamento desta investigação foi assegurado por fundos nacionais através da Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P. (Portugal), nomeadamente no âmbito dos projectos com os DOIs 10.54499/UIDP/04567/2020 e 10.54499/UIDB/04567/2020.

Agradecimentos

Os autores gostariam de expressar os seus agradecimentos a Sérgio Andrade e a todos os participantes no estudo.

Conflito de interesses

Os editores envolvidos na autoria deste manuscrito não tiveram qualquer participação no processo de revisão ou decisão. Todos os autores declararam que não existem relações financeiras e/ou pessoais que possam representar um potencial conflito de interesses.

References / Referências

1. Bernardini, S., Tiezzi, A., Laghezza Masci, V., & Ovidi, E. (2018). Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. *Natural Product Research*, 32 (16),1926-1950. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1356838>
2. Cheng, Y. C., Li, T. S., Su, H. L., Lee, P. C., & Wang, H. M. D. (2020). Transdermal delivery systems of natural products applied to skin therapy and care. *Molecules*, 25(21), 5051. <https://doi.org/10.3390/molecules25215051>
3. Costa, E. F., Magalhães, W. v., & di Stasi, L. C. (2022). Recent Advances in Herbal-Derived Products with Skin Anti-Aging Properties and Cosmetic Applications. *Molecules*, 27(21), 7518. <https://doi.org/10.3390/molecules27217518>
4. Fernandes, A., Rodrigues, P. M., Pintado, M., & Tavaría, F. K. (2023). A systematic review of natural products for skin applications: Targeting inflammation, wound healing, and photo-aging. *Phytomedicine*, 115, 154824. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154824>
5. McLoone, P., Oluwadun, A., Warnock, M., & Fyfe, L. (2016). Honey: A Therapeutic Agent for Disorders of the Skin. *Central Asian Journal of Global Health*, 5(1), 241 <https://doi.org/10.5195/cajgh.2016.241>
6. Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Rzepecka-Stojko, A., Balwierz, R., & Stojko, J. (2020). Bee products in dermatology and skin care. *Molecules*, 25(3), 556. <https://doi.org/10.3390/molecules25030556>
7. Jodidio, M., & Schwartz, R. A. (2024). Honey therapies for dermatological disorders: more than just a sweet elixir. *International Journal of Dermatology*, 63 (4), 422-430. <https://doi.org/10.1111/ijd.16925>
8. Palma-Morales, M., Huertas, J. R., & Rodríguez-Pérez, C. (2023). A Comprehensive Review of the Effect of Honey on Human Health. *Nutrients* 15(13), 3056. <https://doi.org/10.3390/nu15133056>
9. Jull, A. B., Cullum, N., Dumville, J. C., Westby, M. J., Deshpande, S., & Walker, N. (2015). Honey as a topical treatment for wounds. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2015(3), CD005083. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005083.pub4>
10. Norman, G., Christie, J., Liu, Z., Westby, M. J., Jefferies, J. M., Hudson, T., Edwards, J., Mohapatra, D. P., Hassan, I. A., & Dumville, J. C. (2017). Antiseptics for burns. In *Cochrane Database of Systematic Reviews* (Vol. 2017, Issue 7). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011821.pub2>
11. Angioi, R., Morrin, A., & White, B. (2021). The rediscovery of honey for skin repair: Recent advances in mechanisms for honey-mediated wound healing and scaffolded application techniques. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(11), 5192. <https://doi.org/10.3390/app11115192>
12. Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 1259510. <https://doi.org/10.1155/2017/1259510>
13. Burlando, B., & Cornara, L. (2013). Honey in dermatology and skin care: A review. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 12(4), 306-313. <https://doi.org/10.1111/jocd.12058>
14. Ranzato, E., Martinotti, S., & Burlando, B. (2012). Epithelial mesenchymal transition traits in honey-driven keratinocyte wound healing: Comparison among different honeys. *Wound Repair and Regeneration*, 20(5), 778-785. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2012.00825.x>
15. Alangari, A. A., Ashoori, M. D., Alwan, W., Dawe, H. R., Stockinger, B., Barker, J. N., Wincent, E., & di Meglio, P. (2023). Manuka honey activates the aryl hydrocarbon receptor: Implications for skin inflammation. *Pharmacological Research*, 194, 106848. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106848>
16. McLoone P., Oladejo T., Kassym L., McDougall G. (2024). Honey Phytochemicals: Bioactive Agents With Therapeutic Potential for Dermatological Disorders. *Phototherapy Research*, 38(12), 5741-5764. <https://doi.org/10.1002/ptr.8330>
17. Yilmaz, A. C., & Aygin, D. (2020). Honey Dressing In Wound Treatment: A Systematic Review. *Complementary Therapies in Medicine*, 51, 102388. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2020.102388>
18. Filipe, M.C, Kowalczyk, T., Kukula-Koch W., et al. (2024). Evaluating the quality, physicochemical properties, and biological activities of Centauri® honey from Turkey. *Food Bioscience*, 62, 105028. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212429224014585?via%3Dihub>
19. World Medical Association Declaration of Helsinki (2000). *International Journal of Pharmaceutical Medicine*, 14, 279–281. <https://doi.org/10.2165/00124363-200010000-00014>
20. Meloni, M., & Berardesca, E. (2001). The impact of COLIPA guidelines for assessment of skin compatibility on the development of cosmetic products. *American Journal of Clinical Dermatology*, 2(2), 65-68 <https://doi.org/10.2165/00128071-200102020-00002>
21. Pinnagoda, J., Tupkek, R. A., Agner, T., & Serup, J. (1990). Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. *Contact Dermatitis*, 22(3), 164-178. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1990.tb01553.x>
22. Berardesca, E., Loden, M., Serup, J., Masson, P., & Rodrigues, L. M. (2018). The revised EEMCO guidance for the in vivo measurement of water in the skin. *Skin Research and Technology*, 24(3), 351-358. <https://doi.org/10.1111/srt.12599>
23. Mayrovitz, H. N., & Luis, M. (2010). Spatial variations in forearm skin tissue dielectric constant. *Skin Research and Technology*, 16(4), 438-43. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0846.2010.00456.x>
24. Wang, H., Baran, U., & Wang, R. K. (2015). In vivo blood flow imaging of inflammatory human skin induced by tape stripping using optical microangiography. *Journal of Biophotonics*, 8(3), 265-272. <https://doi.org/10.1002/jbio.201400012>
25. Olesen, C. M., Fuchs, C. S. K., Philipsen, P. A., Hædersdal, M., Agner, T., & Clausen, M. L. (2019). Advancement through epidermis using tape stripping technique and Reflectance Confocal Microscopy. *Scientific Reports*, 9(1), 12217. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48698-w>
26. Wu, G. (2021). Amino Acids in Nutrition and Health. *Frontiers in Bioscience - Landmark* 26(12), 1386–1392. <https://doi.org/10.52586/5032>
27. Pageon, H., Azouaoui, A., Zucchi, H., Ricois, S., Tran, C., & Asselineau, D. (2019). Potentially beneficial effects of rhamnose on skin ageing: an in vitro and in vivo study. *International Journal of Cosmetic Science*, 41(3), 213-220. <https://doi.org/10.1111/ics.12523>
28. Al-Ghazzewi, F. H., & Tester, R. F. (2014). Impact of prebiotics and probiotics on skin health. *Beneficial Microbes*, 5(2), 99–107. <https://doi.org/10.3920/BM2013.0040>
29. Gorouhi, F., & Maibach, H. I. (2009). Role of topical peptides in preventing or treating aged skin. *International Journal of Cosmetic Science*, 31, 327–345. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2009.00490.x>

Influence of Instagram® and digital content creators on university students' food choices

Influência do Instagram® e dos criadores de conteúdo digital nas escolhas alimentares de estudantes universitários

Tatiana Fontes ¹ , Patrícia Serra-Ferreira ², & Cíntia Ferreira-Pêgo ¹  

Keywords: Instagram, Social networks, Digital content creators, University students, Eating habits

Palavras-chave: Instagram, Redes sociais, Criadores de conteúdo digital, Estudantes universitários, Hábitos alimentares

To Cite:

Fontes, T., Serra-Ferreira, P., & Ferreira-Pêgo, C. (2024). Influence of Instagram and digital content creators on university students' food choices *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 21(1), 56-69.

 [10.19277/bbr.21.1.342](https://doi.org/10.19277/bbr.21.1.342)

1 - CBIOS – Universidade Lusófona's Research Center for Biosciences & Health Technologies, Campo Grande 376, 1749-024 Lisboa, Portugal

2 - School of Sciences and Health Technologies, Universidade Lusófona, Av. Campo Grande 376, 1749-024 Lisbon, Portugal

Correspondence to / Correspondência a:
cintia.pego@ulusofona.pt

Received / Recebido: 20/06/2024
Accepted / Aceite: 26/11/2024

Abstract

Instagram® has become one of the most widely used social networks by young people worldwide. Studies have shown that the excessive use of the internet can be harmful to the health of users, especially regarding your food choices. The main objective of this analysis was to evaluate the influence of Instagram® and digital content creators on the eating habits of Portuguese university students. Using an online questionnaire through the Google Forms platform, data from 137 participants, aged between 18 and 24 years, studying in Health Sciences and Sports (HSS) or other unrelated areas, was analyzed. It was found that 42.3% of the participants reported following food tips/advice from digital content creators, of whom 53.4% stated that they did not verify the scientific credibility of these recommendations. Moreover, 38% had already adopted diets advertised by these digital content creators, of whom 61.5% reported intending to lose weight. However, 65.6% of the sample reported not achieving the desired results. Finally, when purchasing a food product, 70.1% of the total sample reported taking into consideration the opinion of a nutritionist over that of a digital content creator. In conclusion, students in HSS areas were less influenced by social networks and digital content creators than other students.

Resumo

O Instagram® tornou-se numa das redes sociais mais utilizadas pelos jovens em todo o mundo. Diversos estudos têm demonstrado que o uso excessivo da internet pode ser prejudicial para a saúde dos utilizadores, principalmente no que diz respeito às suas escolhas alimentares. Posto isto o principal objetivo do presente estudo foi avaliar a influência das redes sociais, sobretudo do Instagram®, e dos criadores de conteúdo digital, nos hábitos alimentares de estudantes universitários portugueses. Através de um questionário online, foram analisados os dados de 137 participantes, com idades compreendidas entre os 18 e os 24 anos, estudantes de ciências da saúde e desporto (CSD) ou outras áreas não relacionadas. Verificou-se que 42,3% dos participantes referiram ter seguido dicas/conselhos alimentares de criadores de conteúdo digital, dos quais 53,4% afirmaram não ter verificado a credibilidade científica dessas recomendações. Adicionalmente, 38% já tinham adotado dietas publicitadas por estes influenciadores, dos quais 61,5% referiram ser com intenção de emagrecimento. No entanto, 65,6% da amostra referiu não ter alcançado os resultados desejados. Por fim, na compra de um produto alimentar, 70,1% do total da amostra referiu ter em consideração a opinião de um nutricionista em detrimento da opinião de um criador de conteúdo digital. Em conclusão, os alunos das áreas de CSD foram menos influenciados pelo Instagram® e pelos criadores de conteúdo digital em comparação com os restantes alunos.

Introduction

Internet use has increased yearly, as well as the investigations regarding this use habit in young people (1–3). Studies show that excessive use of the internet can be harmful to the health of users and that the dependence on virtual social networks can be as high as that of some types of addictions, namely those of drugs and alcohol (4–8). The social network Instagram®, launched in 2010, has become one of the most used social networks by young people (9,10). In 2016, it already had more than 500 million users worldwide (9,10). A more detailed analysis of this social network shows that the hashtag “Food” is one of the 25 most used (11) and verified that 54% of users on this social network like to share their food choices or experiences, and 42% seek advice on food and eating habits (11). On the other hand, an experimental study shows that young people adapt to the amount of food consumed by their peers through interactions on social networks (12,13). Some studies have also shown that high exposure to food advertising influences food choices (14,15) and can cause an increase in the intake of certain foods in children (16). On the other hand, in teenagers and adults, advertising influences the image and the opinion created about a brand, especially brands of fast-food products (17). Currently, at a time that many consider to be the era of social networks, there has been an increased adhesion of organizations to these platforms, using them as a means of communication (9). This growing popularity of social networks, namely Instagram®, has led several brands to use the platform to reach diverse audiences using a variety of very powerful marketing strategies (18). The easy communication between users on this social network allows an extension of the reach of the advertisements and creates the feeling that certain brands and products are recommended by colleagues and friends (18,19). The truth is that social networks can be a rapid, low-cost, and direct means of communicating various information, which likely justifies this growing adhesion by organizations (9). However, for the use of this resource to be correct and effective, it is necessary to provide information that is easy to understand, and based on scientific evidence (20), thus preventing people from following the wrong advice or even choosing to make less secure choices. Bragg et al. demonstrated that the five leading brands with the most social media followers were Coca-Cola®, McDonald's®, Starbucks®, Red Bull®, and KFC®, all of which are known for selling foods and beverages high in calories and low in nutrients

Introdução

A utilização da Internet, por parte dos jovens, tem vindo a aumentar de ano para ano, bem como as investigações científicas sobre este hábito de utilização (1–3). Estudos mostram que uma utilização excessiva pode ser prejudicial para a saúde dos utilizadores e que a dependência das redes sociais virtuais pode ser tão elevada como a de alguns tipos de vícios, nomeadamente os das drogas e do álcool (4–8). A rede social Instagram®, lançada em 2010, tornou-se uma das redes sociais mais utilizadas pelos jovens (9,10). Em 2016, já contava com mais de 500 milhões de utilizadores em todo o mundo (9,10). Uma análise mais detalhada desta rede social mostra que o hashtag “Food (Alimentação)” é um dos 25 mais utilizados (11). Tendo-se verificado que 54% dos utilizadores desta rede social gostam de partilhar as suas escolhas ou experiências alimentares e 42% procuram conselhos sobre comida, alimentação e hábitos alimentares (11). Por outro lado, um estudo experimental mostra que os jovens adaptam-se à quantidade de alimentos consumidos pelos seus pares, através de interações nas redes sociais (12,13). Alguns estudos mostraram também que a elevada exposição à publicidade alimentar influencia as escolhas alimentares (14,15) e pode causar um aumento da ingestão de certos alimentos por parte de crianças (16). Por outro lado, em adolescentes e adultos, a publicidade tem influência na imagem e na opinião criada sobre uma marca, especialmente em marcas de produtos de fast-food (17). Atualmente, numa altura que muitos consideram ser a era das redes sociais, tem-se verificado uma maior adesão por parte de organizações e empresas a estas plataformas e à sua utilização como meio de comunicação (9). Esta crescente popularidade das redes sociais, nomeadamente do Instagram®, tem levado a que várias marcas utilizem a plataforma para chegar a diversos públicos utilizando uma variedade de estratégias de marketing muito poderosas (18). A facilidade de comunicação entre utilizadores nesta rede social permite um alargamento do alcance dos anúncios e cria a sensação de que determinadas marcas e produtos são recomendados por colegas e amigos (18,19). A verdade é que as redes sociais podem ser um meio rápido, de baixo custo e direta comunicação para diversas informações, o que provavelmente justifica esta crescente adesão por parte das organizações (9). No entanto, para que a utilização deste recurso seja correta e eficaz, é necessário disponibilizar informação de fácil compreensão e que seja baseada em evidência

(21). In recent years, we have seen an increase in obesity among teenagers and young adults, with one of the main reasons for this rise being unhealthy eating behaviors (22). It is already known that the consumption of high-calorie, low-nutrient foods and beverages is just one factor that increases the risk of obesity, which can also put teenagers at risk for other health issues, such as hypertension, type 2 diabetes, and cardiovascular diseases (22). However, little is known about the influence of Instagram® on adolescents' behaviors, particularly their food choices, which represents a gap in the literature. For this reason, the present study aimed to understand the extent to which social networks, mainly Instagram®, and the creators of digital content, influence the food choices of Portuguese university students.

Materials and Methods

Design And Study Population

To study the influence of social networks and the creators of digital content on the food choices of university students, an online questionnaire was created. The participant's selection followed a non-probabilistic sample following a snowball sampling method. The questionnaire was disseminated principally through personal and institutional social networks, such as Twitter®, Instagram®, and Facebook®, to recruit university students from multiple universities in Portugal. Thus, this pilot study could be characterized as observational, quantitative, and cross-sectional. It included a sample of 137 individuals. The recruitment period ran from November 4th to December 11th, 2019. The sample size was calculated taking into consideration that in the year 2019, 385,247 students were enrolled in university studies all over Portugal. For a confidence level of 95%, a response distribution of 50%, and a margin of error of approximately 10%, the minimum sample size needed for the present analysis would be 100 participants.

científica (20), evitando assim que as pessoas sigam conselhos errados ou até optem por fazer escolhas menos seguras. Bragg et al., demonstraram que as cinco principais marcas com mais seguidores nas redes sociais eram a Coca-Cola®, o McDonald's®, o Starbucks®, o Red Bull® e o KFC®, sendo que todas elas são conhecidas por venderem alimentos e bebidas com elevado teor calórico e baixo valor nutritivo. (21). Nos últimos anos temos assistido a um aumento da obesidade entre adolescentes e jovens adultos, sendo um dos principais motivos para este crescimento os comportamentos alimentares pouco saudáveis (22). Sabemos que o consumo de alimentos e bebidas com elevado teor calórico e baixo valor nutricional é apenas um dos fatores que aumentam o risco de obesidade, o que também pode expor os adolescentes a outros problemas de saúde, como hipertensão, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (22). No entanto, pouco se sabe sobre a influência do Instagram® nos comportamentos dos adolescentes, em particular nas suas escolhas alimentares, o que representa uma lacuna na literatura. Motivo pelo qual, o presente estudo teve como objetivo principal avaliar a influência das redes sociais, principalmente o Instagram® e dos criadores de conteúdo digital, nas escolhas alimentares e uma amostra de estudantes universitários Portugueses.

Material e Métodos

Desenho do estudo e população

Para estudar a influência das redes sociais e dos criadores de conteúdo digital nas escolhas alimentares de uma amostra de estudantes universitários Portugueses, foi criado um questionário online. A seleção dos participantes seguiu uma amostra não probabilística, segundo um método de amostragem em bola de neve. O questionário foi divulgado principalmente através de redes sociais pessoais e institucionais, como o Twitter®, o Instagram® e o Facebook®, para recrutar estudantes universitários de múltiplas universidades em Portugal. Assim, este estudo piloto pode ser caracterizado como observacional, quantitativo e transversal. O período de recrutamento decorreu de 4 de novembro a 11 de dezembro de 2019. O tamanho da amostra foi calculado tendo em consideração que, no ano de 2019, 385.247 estudantes estavam inscritos em instituições de ensino superior no território nacional. Para um nível de confiança de 95%, uma distribuição

de respostas de 50% e uma margem de erro de aproximadamente 10%, a dimensão mínima da amostra necessária para a presente análise seria de 100 participantes.

Influence of social networks

The questionnaire was divided into three sections: a section on general and sociodemographic characteristics (six questions, multiple choice or short answer); a section on information regarding the use of the Instagram® social network (eight questions, multiple choice); and a third section alluding to the influence of digital content creators (eleven questions, multiple choice), requiring approximately seven minutes to answer all the questions. Digital creators were considered as someone responsible for the contribution of information to any media and, most especially, to digital media. They usually target a specific end-user/audience in specific contexts. The present study and analysis considered only digital creator accounts, those having the blue verified account symbol from the Instagram® community. The first section evaluated the general characteristics, such as biological sex, age, area of study, the degree of the course, where they reside, and with whom. In the second section on the use of the social network Instagram®, parameters were evaluated, such as the frequency with which the respondents use the social network, travel to restaurant establishments due to advertisements made on that social network, and the type of food they sold in these establishments, adherence to the Instagram® to see information about food products, as well as the aspects that attract the most attention from the user. Finally, in the third and last section, regarding the influence of digital content creators, parameters, such as the credibility passed by the creators, notoriety of the food establishments, the knowledge of the general public about the product that digital content creators promote, the stimulus of eating habits, adherence to tips/advice and diets, obtaining the desired results regarding the tips/advice that were followed and the opinion they would take more into account when buying a food product (digital content creator vs. nutritionist), were evaluated. A pre-testing to ensure the relevance and clarity of the questions was performed on 15 individuals.

Influência das redes sociais

O questionário foi dividido em três secções: uma secção sobre dados pessoais e características gerais da população (seis questões de escolha múltipla e resposta curta); uma secção sobre informações relativas à utilização da rede social Instagram® (oito questões de escolha múltipla); e uma terceira secção alusiva à influência dos criadores de conteúdo digital (onze questões de escolha múltipla), sendo que demorava cerca de sete minutos para responder a todas as questões. Os criadores de conteúdo digital foram considerados como alguém responsável pela contribuição de informação para qualquer meio de comunicação e, muito especialmente, para os meios digitais. Normalmente, dirigem-se a um utilizador/audiência específica em contextos específicos. Para o presente estudo e análise foram consideradas apenas as contas de criadores digitais com o símbolo azul de conta verificada da comunidade Instagram®. Na primeira secção foram avaliadas as características gerais, como o sexo biológico, a idade, a área de estudo, o grau do curso e onde residiam e com quem. Na segunda secção, sobre a utilização da rede social Instagram®, foram avaliados parâmetros como a frequência com que os inquiridos utilizavam esta rede social, as deslocações a estabelecimentos de restauração devido a anúncios feitos através da rede social e o tipo de alimentos que vendiam nesses estabelecimentos, a adesão ao Instagram® para ver informações sobre produtos alimentares, bem como os aspetos que chamam mais a atenção do utilizador. E, por fim, na terceira e última secção, relativa à influência dos criadores de conteúdo digital, foram avaliados parâmetros, como a credibilidade passada pelos criadores, a notoriedade dos estabelecimentos alimentares, o conhecimento do público em geral sobre o produto que os criadores de conteúdo digital promovem, o estímulo dos hábitos alimentares, a adesão às dicas/ aconselhamentos e dietas, a obtenção dos resultados desejados relativamente a essas mesmas dicas/ aconselhamentos que foram seguidos e a opinião que teriam mais em consideração na compra de um produto alimentar (criador de conteúdo digital vs. nutricionistas). Foi efetuado um pré-teste com 15 pessoas para garantir a pertinência e a clareza das perguntas.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the Statistical Package for Social Sciences (IBM SPSS) version 27.0 for macOS (SPPS Inc., Chicago, IL). Data were presented as percentages, % (absolute frequencies, n) for dichotomous variables, and mean (standard deviation, SD) for continuous variables. It was compared to the distribution of the selected characteristics between groups using Pearson χ^2 tests or student t-tests for categorical or continuous variables, respectively. All the analyses were performed according to the area of study attended by the student. All statistical tests were two-tailed, and the significance level was set at $p < 0.05$.

Ethical Considerations

Before data collection, all individuals agreed to participate in the study, giving their informed and written consent to participate. At the beginning of the questionnaire, the objective of the study, the variables to be evaluated, and the maintenance of anonymity of the data were made available to the participants. The present study was performed following the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards. The health sciences school ethics committee (ECTS, Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde) declared (EC.ECTS/P02.21) that this study is exempted from ethics committee approval since it was an observational study without any type of intervention and all the data was collected online, without any type of human contact.

Results

The final study sample included 137 participants, aged between 18 and 24 years old, living in Portugal, and using the social network Instagram®. All individuals who do not use Instagram's digital platform were excluded from this study ($n=4$), as well as all those who were not students of any higher education institution at the time of the data collection ($n=6$). The participants were analyzed according to their area of study, with 56 participants majoring in Health Sciences and Sports (HSS) and 81 participants majoring in other non-related course areas.

According to Table 1, relative to the general characteristics of the study population, the final sample consisted of 49 male and 88 female

Análise estatística

A análise estatística foi efetuada com recurso ao Statistical Package for Social Sciences (IBM SPSS) versão 27.0 para macOS (SPPS Inc., Chicago, IL). Os dados foram apresentados como percentagens, % (frequências absolutas, n) para variáveis dicotómicas e como média (desvio padrão, DP) para variáveis contínuas. A distribuição das características selecionadas entre os grupos foi comparada com os testes do χ^2 de Pearson e do teste t de student, para variáveis categóricas ou contínuas, respetivamente. Todas as análises foram efetuadas de acordo com a área de estudo frequentada pelo aluno. Todos os testes estatísticos foram bicaudais e o nível de significância foi fixado em $p < 0,05$.

Considerações éticas

Todos os indivíduos, antes da recolha de dados, concordaram em participar no estudo, dando o seu consentimento informado e por escrito. No início do questionário, o objetivo do estudo e as variáveis a serem avaliadas foram disponibilizados aos participantes. A manutenção do anonimato dos dados foi garantido. O presente estudo foi realizado de acordo com as normas éticas estabelecidas na Declaração de Helsínquia de 1964 e suas alterações posteriores ou normas éticas comparáveis. A comissão de ética da Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde (ECTS) declarou (EC.ECTS/P02.21) que este estudo está isento da aprovação da comissão de ética, uma vez que se trata de um estudo observacional sem qualquer tipo de intervenção e todos os dados foram recolhidos online, não existindo qualquer contacto humano.

Resultados

A amostra final estudada incluiu 137 participantes, com idades compreendidas entre os 18 e os 24 anos, residentes em Portugal e utilizadores da rede social Instagram®. Foram excluídos deste estudo todos os indivíduos que não utilizavam a plataforma digital Instagram® ($n=4$), bem como todos aqueles que não estavam matriculados em nenhuma instituição de ensino superior no momento da recolha de dados ($n=6$). Os participantes foram analisados de acordo com a sua área de estudo, sendo 56 participantes da área das ciências da saúde e desporto (CSD) e 81 participantes a frequentar outras áreas não relacionadas.

Table 1 - General characteristics of the population categorized by study area.
Tabela 1. Características gerais da população de acordo com a área de estudo.

	Total population / População total (n=137)	Health Sciences and Sports / Ciências da Saúde e Desporto (n=56)	Other courses / Outros cursos (n=81)	p-value* / valor-p*
Biological sex / Sexo biológico, % (n)				
Women / Mulher	64.2 (88)	78.6 (44)	54.3 (44)	0.004
Men / Homem	35.8 (49)	21.4 (12)	45.7 (37)	
Age, years / Idade, anos				
18 - 21	59.1 (81)	66.1 (37)	54.3 (44)	0.169
22 - 24	40.9 (56)	33.9 (19)	45.7 (37)	
Degree of education / Nível académico, % (n)				
Bachelor's / Licenciatura	93.4 (128)	98.2 (55)	90.1 (73)	0.027
Integrated Master's / Mestrado Integrado	0.7 (1)	1.8 (1)	0.0 (0)	
Master's / Mestrado	5.8 (8)	0.0 (0)	9.9 (8)	
Place of residence / Área de residência, % (n)				
Lisbon / Lisboa	74.5 (102)	71.4 (40)	76.5 (62)	0.500
Other cities / Outras cidades	25.5 (35)	28.6 (16)	23.5 (19)	
Coexistence / Coabitação, % (n)				
Relatives / Familiares	83.2 (114)	85.7 (48)	81.5 (66)	0.174
Housemate / Companheiro de casa	9.5 (13)	12.5 (7)	7.4 (6)	
Alone / Sozinho	6.6 (9)	1.8 (1)	9.9 (8)	
Others / Outros	0.7 (1)	0.0 (0)	1.2 (1)	

Data expressed as a percentage, % (absolute frequencies, n) for categorical variables, and mean (Standard deviation, SD), for continuous variables. *The P-value for comparisons between groups was tested by Pearson's χ^2 test or students' t-test for categorical or continuous variables, respectively. / Dados expressos em percentagem, % (frequências absolutas, n) para variáveis categóricas, e média (desvio padrão, DP), para variáveis contínuas. *O valor de P para comparações entre grupos foi testado pelo teste χ^2 de Pearson ou pelo teste t de Student para variáveis categóricas ou contínuas, respetivamente.

participants, with a statistically significant difference between the sexes. It was also verified that in this study, 59.1% of the participants were aged between 18 and 21 years, and 40.9% were equal to or above 22 years. Overall, the participants lived in the metropolitan area of Lisbon (74.5%) and still lived with their parents/ relatives (83.2%). None of these results were statistically significant. It was also verified that most participants were studying for a bachelor's degree (93.4%), and there was a statistically significant difference between degrees and areas of study.

In Table 2, referring to the use of the social network Instagram®, it is possible to observe that the vast

De acordo com a Tabela 1, relativa às características gerais da população em estudo, a amostra final é constituída por 49 participantes do sexo masculino e 88 do sexo feminino, com uma diferença estatisticamente significativa entre sexos. Verificou-se ainda que, neste estudo, 59,1% dos participantes tinham idades compreendidas entre os 18 e os 21 anos e 40,9% igual ou superior a 22 anos. Globalmente, os participantes residiam na área metropolitana de Lisboa (74,5%) e ainda viviam com os pais/familiares (83,2%). No entanto, nenhum destes resultados foi estatisticamente significativo. Verificou-se ainda que a maioria dos participantes se encontrava a frequentar uma licenciatura (93,4%), sendo que se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre os graus de ensino e as áreas de estudo.

Table 2 - Use of the Instagram social network categorized by study area.
Tabela 2 - Uso da rede social Instagram de acordo com a área de estudo.

	Total population / População total (n=137)	Health Sciences and Sports / Ciências da Saúde e Desporto (n=56)	Other courses / Outros cursos (n=81)	p-value* / valor-p*
Daily use / Uso diário, % (n)	98.5 (135)	98.2 (55)	98.8 (80)	0.791
Hours per day / Horas diárias, % (n)				
< 1 hour/ hora	8.1 (11)	9.1 (5)	7.5 (6)	0.740
≥ 1 hour/ hora	91.9 (124)	90.9 (50)	92.5 (74)	
Travel to establishments due to advertisement / Frequência de estabelecimentos devido a publicidade, % (n)	80.3 (110)	75.0 (42)	84.0 (68)	0.195
Type of products consumed / Tipos de produtos consumidos, % (n)				
Fast-food / Comida rápida	16.2 (18)	7.3 (3)	21.4 (15)	0.020
Pastry and cakes / Bolos e pastelaria	63.1 (70)	61.0 (25)	64.3 (45)	
Vegetarian food / Comida vegetariana	12.6 (14)	14.6 (6)	11.4 (8)	
Others / Outros	8.1 (9)	17.1 (7)	2.9 (2)	
Get information about brands and establishments / Obter informações sobre marcas e estabelecimentos, % (n)	54.0 (74)	48.2 (27)	58.0 (47)	0.257
Reliable to obtain information / Fiável para obter informações, % (n)	54.0 (74)	30.4 (17)	70.4 (57)	< 0.001

Data expressed as a percentage, % (absolute frequencies, n). *The P-value for comparisons between groups was tested by Pearson's χ^2 test. / Dados expressos em percentagem, % (frequências absolutas, n). *O valor de P para comparações entre grupos foi testado pelo teste χ^2 de Pearson.

majority of participants used this platform daily (98.5%), with 8.1% reporting use of less than one hour, and the other 91.9% reporting use of one hour or more per day. When asked if they had previously visited restaurants due to advertisements seen on this social network, the vast majority (80.3%) answered affirmatively. Statistical differences were also found regarding the type of product consumed in these recommended establishments, with the majority of pastries and cakes (63.1%). As for the social network, Instagram® is a reliable means of obtaining information about food products; 54.0% of the participants answered affirmatively, and there is also a statistically significant difference when comparing the different areas of study of the participants.

Some questions were also asked regarding the influence of digital content creators, and the results obtained can be seen in Table 3 and Table 4. In Table 3, it is possible to observe that 81% of the participants followed the work of at least one digital content creator, and 69.3% of the total population affirms that digital content creators give greater credibility to the sale of products, making this last result statistically

Na Tabela 2, referente à utilização da rede social Instagram®, podemos verificar que a grande maioria dos participantes utilizava esta plataforma diariamente (98,5%), com 8,1% a referir uma utilização inferior a uma hora e os restantes 91,9% a referir uma utilização de uma hora ou mais por dia. Quando questionados se já tinham visitado restaurantes, devido a anúncios vistos nesta rede social, a grande maioria (80,3%) respondeu afirmativamente. Também se observaram diferenças significativas relativamente ao tipo de produto consumido nesses estabelecimentos recomendados, sendo a maioria pastelaria e bolos (63,1%). Quanto à rede social Instagram® ser um meio fiável de obtenção de informação sobre produtos alimentares, 54,0% dos participantes responderam afirmativamente, verificando-se também uma diferença estatisticamente significativa quando comparadas os diferentes grupos de participantes.

Foram ainda colocadas algumas questões relativamente à influência dos criadores de conteúdo digital, e os resultados obtidos nessas respostas podem ser observados na Tabela 3 e na Tabela 4. Na Tabela 3, podemos verificar que 81% dos participantes seguiam

Table 3 - Influence of digital content creators about products and establishments categorized by area of study.**Tabela 3** - Influência dos criadores de conteúdo digital sobre produtos e estabelecimentos de acordo com a área de estudo.

	Total population / População total (n=137)	Health Sciences and Sports / Ciências da Saúde e Desporto (n=56)	Other courses / Outros cursos (n=81)	p-value* / valor-p*
Following digital content creators' work / Seguir o trabalho dos criadores de conteúdo digital, % (n)	81.0 (111)	82.1 (46)	80.2 (65)	0.781
They give greater credibility to products / Dão maior credibilidade aos produtos, % (n)	69.3 (95)	51.8 (29)	81.5 (66)	< 0.001
They confer greater notoriety to establishments / Conferem maior notoriedade aos estabelecimentos, % (n)	95.6 (131)	92.9 (52)	97.5 (79)	0.189
Does the public have sufficient knowledge about products promoted by influencers? / O público tem conhecimentos suficientes sobre os produtos promovidos pelos influenciadores?, % (n)				
Yes / Sim	21.9 (30)	5.4 (3)	33.3 (27)	< 0.001
No / Não	78.1 (107)	94.6 (53)	66.7 (54)	
They encourage less healthy eating habits/ Incentivam hábitos alimentares menos saudáveis, % (n)	86.1 (118)	89.3 (50)	84.0 (68)	0.374

Data expressed as a percentage, % (absolute frequencies, n). *The P-value for comparisons between groups was tested by Pearson's χ^2 test./ Dados expressos em percentagem, % (frequências absolutas, n). *O valor de P para comparações entre grupos foi testado pelo teste χ^2 de Pearson.

significant between areas of study. Approximately 95% of respondents state that they feel increasing notoriety of the establishments that are advertised on these content creators' feeds, and 86.1% recognized that digital content creators advertised bad eating habits for young people by advertising unhealthy products. However, none of these results were statistically relevant. On the other side, statically significant results were found regarding the question about, "Does the public have sufficient knowledge about products promoted by influencers?," where 33.3% of those students majoring in not related to health sciences answered affirmatively.

On the other hand, according to Table 4, 57.7% of the participants reported not following the dietary advice recommended by the creators of digital content. Still, there is a statistically significant difference when comparing this response between the two areas of study. As for the participants who mentioned the following recommendations by these digital content creators, 53.4% also stated that they did not verify

o trabalho de pelo menos um criador de conteúdo digital e 69,3% da população total afirma que os criadores de conteúdo digital dão maior credibilidade à venda de produtos, sendo este último resultado estatisticamente significativo entre áreas de estudo. Cerca de 95% dos inquiridos referem que sentem um aumento da notoriedade dos estabelecimentos que são publicitados nos feeds (perfis) destes criadores de conteúdos e 86,1% referem que estes publicitam maus hábitos alimentares nos jovens ao publicitarem produtos não saudáveis. No entanto, nenhum destes resultados foi estatisticamente relevante. Por outro lado, foram encontrados resultados estatisticamente significativos relativamente à questão sobre "O público tem conhecimento suficiente sobre os produtos promovidos pelos influenciadores?", em que 33,3% dos alunos com formação em áreas não relacionadas com as ciências da saúde responderam afirmativamente.

Por outro lado, de acordo com a Tabela 4, 57,7% dos participantes relataram não seguirem os conselhos alimentares recomendados pelos criadores de conteúdo digital. Ainda assim, existiu uma diferença estatisticamente significativa quando se compara esta resposta entre as duas áreas de estudo. Quanto aos

Table 4 - Influence of digital content creators about food categorized by study area.**Tabela 4** - Influência dos criadores de conteúdo digital sobre a alimentação de acordo com a área de estudo.

	Total population / População total (n=137)	Health Sciences and Sports / Ciências da Saúde e Desporto (n=56)	Other courses / Outros cursos (n=81)	p-value* / valor-p*
Usually follow food advices / Seguir habitualmente os conselhos alimentares, % (n)	42.3 (58)	26.8 (15)	53.1 (43)	0.002
Checks the credibility of these food advice / Verifica a credibilidade destes conselhos alimentares, % (n)	46.6 (27)	80.0 (12)	34.9 (15)	0.003
Previously adhered to a recommended diet / Já aderiu a uma dieta recomendada, % (n)	38.0 (52)	28.6 (16)	44.4 (36)	0.060
Type of diet / Tipo de dieta, % (n)				
Vegetarian diet / Dieta vegetariana	17.3 (9)	12.5 (2)	19.4 (7)	
Weight loss / Emagrecimento	61.5 (32)	75.0 (12)	55.6 (20)	0.522
Ketogenic Diet / Dieta cetogénica	5.8 (3)	6.3 (1)	5.6 (2)	
Others / Outras	15.4 (8)	6.3 (1)	19.4 (7)	
Obtained the desired results / Obteve resultados desejados, % (n)	34.4 (31)	29.0 (9)	37.3 (22)	0.433
Opinion to take into account when purchasing a product / Opinião a ter em conta na compra de um produto, % (n)				
Nutritionist / Nutricionista	70.1 (96)	92.9 (52)	54.3 (44)	
Digital content creator / Criador de conteúdo digital	6.6 (9)	1.8 (1)	9.9 (8)	< 0.001
Both / Ambos	23.4 (32)	5.4 (3)	35.8 (29)	

Data expressed as a percentage, % (absolute frequencies, n). *The P-value for comparisons between groups was tested by Pearson's χ^2 test./ Dados expressos em percentagem, % (frequências absolutas, n). *O valor de P para comparações entre grupos foi testado pelo teste χ^2 de Pearson.

the scientific credibility of these same tips. Again, this relationship was statistically significant when comparing the groups analyzed. Finally, we can also see that 62% of the population reported not adhering to dietary plans mentioned by the creators of digital content. Of the 38% who usually adhere, 61.5% showed the intention of losing weight. On the other hand, 65.6% of the participants affirm that they did not obtain the desired results through the advice given by digital content creators. Finally, when buying a food product, 70.1% of the total sample reported taking into consideration the opinion of a nutritionist over a digital content creator, and these results were statistically different between the analyzed groups.

participantes que referiram seguir as recomendações destes criadores de conteúdo digital, 53,4% também afirmaram não verificar a credibilidade científica dessas mesmas dicas, mais uma vez esta relação foi estatisticamente significativa quando comparados os grupos analisados. Por fim, podemos também verificar que 62% da população inquirida não aderiu às recomendações alimentares mencionados pelos criadores de conteúdo digital. Dos 38% que costumam aderir, 61,5% tinham a intenção de emagrecimento. Por outro lado, 65,6% dos participantes afirmaram que não obtiveram os resultados desejados através dos conselhos dados pelos criadores de conteúdo digital. Por fim, no momento da compra de um produto alimentar, 70,1% da amostra total referiu levar em consideração a opinião de um nutricionista em detrimento de um criador de conteúdo digital, sendo estes resultados estatisticamente diferentes entre os grupos analisados.

Discussion

The present study reported for the first time that Portuguese university students of courses not related to the HSS area were more likely to follow dietary advice made by the creators of digital content on Instagram®. On the other hand, students attending academic courses in the field of HSS give more importance to the opinion of a nutritionist / dietitian than a creator of digital content. Instagram® is a social network used by millions of teenagers and young adults (10). For this reason, this study was conducted with university students. One of the inclusion criteria of this study was the use of this social network, and we verified that 98.5% of the participants used Instagram® daily. A study carried out in the area of neuroscience indicates that images of food can affect brain activity related to appetite (23), thus explaining why 80.3% of the participants in this study claimed to have visited a food establishment due to advertising on Instagram®. On the other hand, a study by Turner and Lefevre (10) showed that the use of Instagram® was associated with a greater tendency towards Orthorexia Nervosa, which consists of an obsession with healthy eating. However, this relation differs in the type of restaurants in which the participants perceived they went after to see advertising. Similar results were not found in the present study since 63.1% of the participants who claim to have gone to food establishments refer that they sold products such as pastries and cakes, 16.2% refer to fast food, 12.6% to vegetarian food, and only a small portion (33.3%, data not shown) of participants under the "other" option referred to healthy food. It can also be observed that about 69.3% of the participants in the present study claim that the creators of digital content give greater credibility to food product sales. The vast majority of the sample also believes that the increase in the notoriety of some establishments is due to the enormous visibility that this social network provides. Several studies have already shown that brands/ establishments have increasingly resorted to social networks to advertise their products (18,19,24). An example of this is the Starbucks® company, which was one of the biggest advertisers on the social network Facebook® in 2013, thus reaching many teenagers (24). About 86.1% of study participants believe that digital content creators who advertise unhealthy foods also encourage unhealthy eating habits in children and young people. Some studies demonstrate a concern regarding food marketing carried out on

Discussão

O presente estudo relatou, pela primeira vez, que uma amostra de estudantes universitários portugueses de cursos não relacionados com a área das CSD são mais propensos a seguir conselhos dietéticos propostos pelos criadores de conteúdo digital no Instagram®. Por outro lado, os estudantes que frequentavam cursos académicos na área das CSD dão mais importância à opinião de um nutricionista/dietista do que à de um criador de conteúdo digital. O Instagram® é uma rede social utilizada por milhões de adolescentes e jovens adultos (10). Por este motivo, este estudo foi realizado em estudantes universitários. Um dos critérios de inclusão deste estudo foi a utilização desta rede social, e verificámos que 98,5% dos participantes utilizavam o Instagram® diariamente. Um estudo, realizado na área da neurociência, indica que as imagens de alimentos podem afetar a atividade cerebral, relacionada com o apetite (23), explicando assim o porquê de 80,3% dos participantes deste estudo terem afirmado visitar um estabelecimento alimentar devido a publicidade no Instagram®. Por outro lado, um estudo de Turner & Lefevre (10) mostrou que o uso do Instagram® estava associado a uma maior tendência para a Ortorexia Nervosa, que consiste numa obsessão por uma alimentação saudável. No entanto, diferenças nos tipos de estabelecimentos frequentados foram encontrados (10), já que no presente estudo, 63,1% dos participantes referiram ser mais influenciados sobre o consumo de produtos como pastelaria e bolos, 16,2% referem fast-food, 12,6% comida vegetariana e apenas uma pequena parte (33,3%, dados não apresentados) dos participantes na opção "outro" referiu comida saudável. Foi possível ainda observar-se que cerca de 69,3% dos participantes do presente estudo afirmaram considerar que os criadores de conteúdo digital conferem maior credibilidade à venda de produtos alimentares. A grande maioria da amostra acredita ainda que o aumento da notoriedade de alguns estabelecimentos se deve à enorme visibilidade que esta rede social proporciona. Vários estudos já demonstraram que as marcas/ estabelecimentos têm recorrido cada vez mais às redes sociais para publicitar os seus produtos (18,19,24). Um exemplo disso é a empresa Starbucks® que foi um dos maiores anunciantes na rede social Facebook® em 2013, chegando assim a muitos adolescentes (24). Cerca de 86,1% dos participantes no estudo reportaram acreditar que os criadores de conteúdo digital, que publicitam alimentos pouco saudáveis, incentivam hábitos alimentares também pouco saudáveis nas crianças e nos jovens. Alguns estudos demonstram uma preocupação com o marketing alimentar, realizado nas redes sociais,

social networks, which is mostly dominated by soft drinks and fast food (17,25). In the present study, we can observe that most of the foods consumed are unhealthy, although the participants appear to have some knowledge about it. These findings are in line with other studies demonstrating that teenagers and young adults tend to consume significantly less healthy foods after seeing advertisements for them on social media (26–28). A study by Harris et al. demonstrated that food advertisements cause a psychological sensation that many people are consuming these advertised products, thus producing a positive emotional response from those watching the advertisement (29). Despite this, about 57.7% of the participants stated that they did not adhere to food advice / tips provided by digital influencers. However, it is possible to observe a statistically significant difference between the different cohorts of participants. It is possible to observe, once again, that students in the area of HSS reported to have lower adherence to information provided on social networks compared to students from other areas of study. The reason for these results does not seem to be clear. However, studies show that HSS students tend to have greater concern and sensitivity to health-related topics (22). On the other hand, 38% of the population analyzed affirmed adhering to diets due to the influence of digital content creators, with the goal of weight loss the most mentioned (61.5%). Some studies conducted with school-aged females who regularly use Facebook® show that they are more concerned with body shape and weight, as well as present a greater desire to lose weight (30,31). These results, although directly related to another social network, may be the source of the demand for weight loss regimes on Instagram®. However, it is important to note that the vast majority of the university students included in this study affirm that they did not obtain the desired results, either in the food advice they followed or in their adhered diets. This may be a justification for the fact that 70.1% of the participants stated that they would take more into consideration the opinion of a nutritionist / dietitian than of a creator of digital content. Another cross-sectional study concluded that correct eating habits and healthier lifestyles were associated with students with nutritional concerns, which is in line with the results of the present study, since students in the HSS field have shown more attention to the information provided and its providers (32).

que é maioritariamente dominado por refrigerantes e fast food (17,25). No presente estudo, podemos observar que a maioria dos alimentos consumidos não são saudáveis, embora os participantes pareçam ter algum conhecimento sobre o assunto. Estes resultados vão ao encontro de outros estudos que demonstram que adolescentes e jovens adultos tendem a consumir significativamente alimentos menos saudáveis após verem publicidade dos mesmos nas redes sociais (26–28). Um estudo de Harris et al., demonstrou mesmo que os anúncios de alimentos causam uma sensação psicológica de que muitas pessoas consomem esses produtos publicitados, produzindo assim uma resposta emocional positiva de quem está a assistir ao anúncio (29). Apesar disso, cerca de 57,7% dos participantes afirmaram que não aderiram aos conselhos/dicas alimentares fornecidos pelos influenciadores digitais. No entanto, podemos observar uma diferença estatisticamente significativa entre os diferentes grupos de participantes. É possível observar, mais uma vez, que os estudantes da área das CSD têm uma menor adesão às informações fornecidas nas redes sociais, em comparação com os estudantes de outras áreas de estudo. O motivo destes resultados não parece ser claro, no entanto, estudos demonstram que alunos de CSD tendem a ter uma maior preocupação e sensibilidade para temáticas relacionadas com a saúde (22). Por outro lado, 38% da população analisada afirmou aderir a dietas, devido à influência dos criadores de conteúdo digital, sendo o objetivo de perda de peso o mais referido (61,5%). Alguns estudos realizados com fêmeas em idade escolar que utilizam regularmente o Facebook®, mostraram que estas se preocupam mais com a forma e o peso do seu corpo, bem como apresentam um maior desejo de emagrecimento (30,31). Estes resultados, embora diretamente relacionados com outra rede social, talvez estejam na origem da procura de regimes de emagrecimento no Instagram®. No entanto, é importante referir que a grande maioria dos estudantes universitários incluídos neste estudo, afirmaram que não obtiveram os resultados desejados, quer nos conselhos alimentares que seguiram, quer nas dietas a que aderiram. Esta poderá ser uma justificação para o facto de 70,1% dos participantes afirmarem que teriam mais em consideração a opinião de um nutricionista/dietista, do que a de um criador de conteúdo digital. Um estudo transversal concluiu que hábitos alimentares corretos e estilos de vida mais saudáveis estavam associados a estudantes com preocupações sobre o seu estado nutricional, o que vai ao encontro dos resultados deste estudo, uma vez que os estudantes da área das CSD demonstraram maior atenção à informação fornecida e a quem a fornece (32).

The present study showed some limitations, such as the fact that the snowball sampling method used can be prone to selection bias, lack of representativeness (also because the majority of the students were from Lisbon region), and dependence on participants' social networks, resulting in a potentially heterogeneous and non-generalizable sample. In addition, there is little ability to control the sample size, which can jeopardize the diversity and validity of the results. Another limitation falls on the design of the study performed, which does not allow the establishment of a cause-effect relationship. These limitations indicate that the findings should be interpreted with caution and suggest the need for future studies with more representative samples. However, these types of studies are important in regard to future research, principally the policy implications of this type of exploration, as policies to monitor and regulate social media platforms are needed, especially given the rise of fake news being circulated online (33).

Conclusion

The present study found that Portuguese university students in academic courses not related to HSS were more likely to follow dietary advice performed by the creators of digital content on Instagram®. The vast majority did not verify the credibility of these same recommendations and believed that the creators of digital content give greater credibility to the products they advertise. On the other hand, students attending academic courses in the field of HSS gave more importance to the opinion of a nutritionist/dietitian over a creator of digital content. These students believed that the general public did not have enough information about the food products that are advertised on Instagram® by the creators of digital content. In this sense, this study concluded that students of HSS study areas were less influenced by the contents present in social networks and by the creators of digital content in comparison with students from other academic courses.

O presente estudo apresentou algumas limitações, como o facto do método de amostragem por bola de neve ter limitações como o viés de seleção, a falta de representatividade (já que, por exemplo, a maioria dos estudantes era da região de Lisboa) e a dependência das redes sociais dos participantes, não sendo os resultados generalizáveis. Adicionalmente, há pouca capacidade de controlar o tamanho da amostra, o que pode comprometer a diversidade e a validade dos resultados. Outra limitação recai sobre o desenho do estudo realizado, não permitindo o estabelecimento de uma relação causa-efeito. Estas limitações indicam que os resultados devem ser interpretados com cautela e sugerem a necessidade de estudos futuros com amostras mais representativas. No entanto, este tipo de estudos é importante para futuras investigações, principalmente no que diz respeito às implicações políticas deste tipo de exploração, em que são necessárias políticas para monitorizar e regular as plataformas de redes sociais, especialmente tendo em consideração o aumento das notícias que circulam vão circulando online (33).

Conclusões

No presente estudo verificou-se que os estudantes de cursos não relacionados com a área CSD são mais propensos a seguir conselhos dietéticos e nutricionais realizados pelos criadores de conteúdo digital no Instagram®. Uma vez que a grande maioria não verifica a credibilidade desses mesmos conselhos e acredita que os criadores de conteúdo digital dão maior credibilidade aos produtos que publicitam. Por outro lado, os alunos que frequentam cursos académicos na área das CSD dão maior importância à opinião de um nutricionista/dietista do que de um criador de conteúdo digital. Estes estudantes acreditam que o público em geral não tem conhecimento suficiente sobre os produtos alimentares que são publicitados no Instagram® pelos criadores de conteúdo digital. Neste sentido, este estudo determinou que os estudantes das áreas de CSD são menos influenciados pelos conteúdos presentes em redes sociais, assim como pelos criadores de conteúdo digital, em comparação com os estudantes de outros cursos académicos.

Authors Contributions Statement

Conceptualization, T.F., C.F.-P; methodology, T.F., P.S.-F, C.F.-P; software, T.F.; validation, C.F.-P; formal analysis, T.F., C.F.-P; investigation, T.F.; resources, T.F.; data curation, T.F.; writing—original draft preparation, T.F., P.S.-F.; writing - review and editing, C.F.-P.; visualization, C.F.-P.; supervision, C.F.-P.; project administration, C.F.-P; funding acquisition, C.F.-P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding

This research was funded by FCT - Foundation for Science and Technology, I.P., grant number [DOI 10.54499/UIDB/04567/2020] and [DOI 10.54499/UIDP/04567/2020]. C.F.-P. is funded by the Foundation for Science and Technology (FCT) Scientific Employment Stimulus contract [reference number DOI 10.54499/CEECINST/00147/2018/CP1498/CT0009].

Acknowledgments

The authors would like to express their thanks to all participants.

Conflict of Interests

The editor involved in this manuscript's authorship had no participation in the review or decision process. The authors declare there are no financial and/or personal relationships that could present a potential conflict of interest.

Declaração sobre as contribuições do autor

Concetalização, T.F., C.F.-P; metodologia, T.F., P.S.-F., C.F.-P; software, T.F.; validação, C.F.-P; análise formal, T.F., C.F.-P; investigação, T.F.; recursos, T.F.; curadoria de dados, T.F.; redação - preparação do rascunho original, T.F., P.S.-F.; redação - revisão e edição, C.F.-P; visualização, C.F.-P; supervisão, C.F.-P; administração do projeto, C.F.-P; obtenção de financiamento, C.F.-P. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Financiamento

Esta investigação foi financiada pela FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P. sob as referências de projeto [DOI 10.54499/UIDB/04567/2020] e [UIDP/04567/2020]. C.F.-P. é financiada pelo contrato de Estímulo ao Emprego Científico da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) [número de referência DOI 10.54499/CEECINST/00147/2018/CP1498/CT0009].

Agradecimentos

Os autores gostariam de expressar os seus agradecimentos a todos os participantes.

Conflito de Interesses







A editora envolvida na autoria desses manuscritos não teve participação no processo de revisão ou decisão. Os autores declaram que não existem relações financeiras e/ou pessoais que possam representar um potencial conflito de interesses.

References / Referências

1. Kircaburun, K., & Griffiths, M. D. (2018). Instagram addiction and the Big Five of personality: The mediating role of self-liking. *Journal of Behavioral Addictions, 7*(1), 158–170. <https://doi.org/10.1556/2006.7.2018.15>
2. Young, K. S. (1996). Psychology of Computer Use: XL. Addictive Use of the Internet: A Case That Breaks the Stereotype. *Psychological Reports, 79*(3), 899–902. <https://doi.org/10.2466/pr0.1996.79.3.899>
3. Young, K. S. (1998). Internet Addiction: The Emergence of a New Clinical Disorder. *CyberPsychology & Behavior, 1*(3), 237–244. <https://doi.org/10.1089/cpb.1998.1.237>
4. Kuss, D., & Griffiths, M. (2017). Social Networking Sites and Addiction: Ten Lessons Learned. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 14*(3), 311. <https://doi.org/10.3390/ijerph14030311>
5. Billieux, J., Schimmenti, A., Khazaal, Y., Maurage, P., & Heeren, A. (2015). Are we overpathologizing everyday life? A tenable blueprint for behavioral addiction research. *Journal of Behavioral Addictions, 4*(3), 119–123. <https://doi.org/10.1556/2006.4.2015.009>
6. Kawabe, K., Horiuchi, F., Ochi, M., Oka, Y., & Ueno, S. (2016). Internet addiction: Prevalence and relation with mental states in adolescents. *Psychiatry and Clinical Neurosciences, 70*(9), 405–412. <https://doi.org/10.1111/pcn.12402>
7. Mihajlov, M., & Vejmelka, L. (2017). Internet Addiction: A Review of the First Twenty Years. *Psychiatria Danubina, 29*(3), 260–272. <https://hrcak.srce.hr/file/276157>
8. Montag, C., Sindermann, C., Becker, B., & Panksepp, J. (2016). An Affective Neuroscience Framework for the Molecular Study of Internet Addiction. *Frontiers in Psychology, 7*. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2016.01906>
9. Schlesselman-Tarango, G. (2013). Searchable Signatures: Context and the Struggle for Recognition. *Information Technology and Libraries, 32*(3), 5–19. <https://doi.org/10.6017/ital.v32i3.3093>
10. Turner, P. G., & Lefevre, C. E. (2017). Instagram use is linked to increased symptoms of orthorexia nervosa. *Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity, 22*(2), 277–284. <https://doi.org/10.1007/s40519-017-0364-2>
11. Hanson, C., West, J., Neiger, B., Thackeray, R., Barnes, M., & McIntyre, E. (2011). Use and Acceptance of Social Media Among Health Educators. *American Journal of Health Education, 42*(4), 197–204. <https://doi.org/10.1080/19325037.2011.10599188>
12. Bevelander, K. E., Anschutz, D. J., Creemers, D. H. M., Kleinjan, M., & Engels, R. C. M. E. (2013). The Role of Explicit and Implicit Self-Esteem in Peer Modeling of Palatable Food Intake: A Study on Social Media Interaction among Youngsters. *PLoS ONE, 8*(8), e72481. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072481>
13. Holmberg, C., E. Chaplin, J., Hillman, T., & Berg, C. (2016). Adolescents' presentation of food in social media: An explorative study. *Appetite, 99*, 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2016.01.009>
14. Chandon, P., & Wansink, B. (2012). Does food marketing need to make us fat? A review and solutions. *Nutrition Reviews, 70*(10), 571–593. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00518.x>
15. Dixon, H., Scully, M., Niven, P., Kelly, B., Chapman, K., Donovan, R., Martin, J., Baur, L. A., Crawford, D., & Wakefield, M. (2014). Effects of nutrient content claims, sports celebrity endorsements and premium offers on pre-adolescent children's food preferences: Experimental research. *Pediatric Obesity, 9*(2). <https://doi.org/10.1111/j.2047-6310.2013.00169.x>
16. Boyland, E. J., Nolan, S., Kelly, B., Tudur-Smith, C., Jones, A., Halford, J. C., & Robinson, E. (2016). Advertising as a cue to consume: A systematic review and meta-analysis of the effects of acute exposure to unhealthy food and nonalcoholic beverage advertising on intake in children and adults. *The American Journal of Clinical Nutrition, 103*(2), 519–533. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.120022>
17. Clark, C. R., Doraszelski, U., & Draganska, M. (2009). The effect of advertising on brand awareness and perceived quality: An empirical investigation using panel data. *Quantitative Marketing and Economics, 7*(2), 207–236. <https://doi.org/10.1007/s11129-009-9066-z>
18. Montgomery, K. C., & Chester, J. (2009). Interactive Food and Beverage Marketing: Targeting Adolescents in the Digital Age. *Journal of Adolescent Health, 45*(3), S18–S29. <https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2009.04.006>
19. Vassallo, A. J., Kelly, B., Zhang, L., Wang, Z., Young, S., & Freeman, B. (2018). Junk Food Marketing on Instagram: Content Analysis. *JMIR Public Health and Surveillance, 4*(2), e54. <https://doi.org/10.2196/publichealth.9594>
20. Tobey, L. N., & Manore, M. M. (2014). Social Media and Nutrition Education: The Food Hero Experience. *Journal of Nutrition Education and Behavior, 46*(2), 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.jneb.2013.09.013>
21. Mangold, W. G., & Faulds, D. J. (2009). Social media: The new hybrid element of the promotion mix. *Business Horizons, 52*(4), 357–365. <https://doi.org/10.1016/j.bushor.2009.03.002>
22. Beaver, J. D., Lawrence, A. D., Van Ditzhuijzen, J., Davis, M. H., Woods, A., & Calder, A. J. (2006). Individual Differences in Reward Drive Predict Neural Responses to Images of Food. *The Journal of Neuroscience, 26*(19), 5160–5166. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0350-06.2006>
23. Boyland, E. J., & Whalen, R. (2015). Food advertising to children and its effects on diet: Review of recent prevalence and impact data: Food advertising to children. *Pediatric Diabetes, 16*(5), 331–337. <https://doi.org/10.1111/pedi.12278>
24. Williams, S. (2013). Action needed to combat food and drink companies' social media marketing to adolescents. *Perspectives in Public Health, 133*(3), 146–147. <https://doi.org/10.1177/1757913913484871>
25. Meier, E. P., & Gray, J. (2014). Facebook Photo Activity Associated with Body Image Disturbance in Adolescent Girls. *Cyberpsychology, Behavior, and Social Networking, 17*(4), 199–206. <https://doi.org/10.1089/cyber.2013.0305>
26. Walker, M., Thornton, L., De Choudhury, M., Teevan, J., Bulik, C. M., Levinson, C. A., & Zerwas, S. (2015). Facebook Use and Disordered Eating in College-Aged Women. *Journal of Adolescent Health, 57*(2), 157–163. <https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2015.04.026>
27. El-Ahmady, S., & El-Wakeel, L. (2017). The Effects of Nutrition Awareness and Knowledge on Health Habits and Performance Among Pharmacy Students in Egypt. *Journal of Community Health, 42*(2), 213–220. <https://doi.org/10.1007/s10900-016-0245-z>
28. Sacks, G., & Looi, E. S. Y. (2020). The Advertising Policies of Major Social Media Platforms Overlook the Imperative to Restrict the Exposure of Children and Adolescents to the Promotion of Unhealthy Foods and Beverages. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 17*(11), 4172. <https://doi.org/10.3390/ijerph17114172>

Food security in times of COVID-19 - A study of access in homes in the Riobamba canton, Ecuador

Segurança alimentar em tempos de COVID-19 - Um estudo de acesso em residências no cantão de Riobamba, Equador

Víctor Dante Ayaviri-Nina ¹ , Gisel Cristina Martínez-Lluguin ¹, Gabith Miriam Quispe-Fernández ¹ , Ariana Saraiva ² , Conrado Carrascosa ³ , Heesup Han ⁴ , António Raposo ⁵  

Keywords: Access, COVID-19, Ecuador, food security, logistics, unemployment

Palavras-chave: Acesso, COVID-19, Equador, segurança alimentar, logística, desemprego

To Cite:

Ayaviri-Nina, V. D., et al. (2024) Food security in times of COVID-19 - A study of access in homes in the Riobamba canton, Ecuador *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 21(1), 70-86.

 [10.19277/bbr.21.1.343](https://doi.org/10.19277/bbr.21.1.343)

1 - Department of Economics, Faculty of Political and Administrative Sciences, Universidad Nacional de Chimborazo, Riobamba 060110, Ecuador

2 - Research in Veterinary Medicine (I-MVET), Faculty of Veterinary Medicine, Lisbon University Centre, Lusófona University, Campo Grande 376, 1749-024 Lisboa, Portugal

3 - Department of Animal Pathology and Production, Bromatology and Food Technology, Faculty of Veterinary, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña s/n, 35413 Arucas, Spain

4 - College of Hospitality and Tourism Management, Sejong University, 209 Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 05006, South Korea

5 - CBIOS (Research Center for Biosciences and Health Technologies), Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Campo Grande 376, 1749-024 Lisboa, Portugal

Correspondence to / Correspondência a:
antonio.raposo@ulusofona.pt

Received / Recebido: 20/09/2024
Accepted / Aceite: 10/12/2024

Abstract

In the health emergency caused by COVID-19, several economic and social problems arose, especially in food security. The research aims to determine the most important factors that limited access to food during this health emergency in the canton of Riobamba, Ecuador. For this determination, primary sources of information were used through a survey directed to 244 families from a population of 65,853 families. The questionnaire was prepared with dichotomous, structured and Likert scale questions. Secondary information was also used through the consultation of documents from organizations linked to the management and administration of the health crisis, such as the municipality and health centers, as well as the literature related to the phenomenon of study. The survey results show that household spending on food is low and does not cover the price of the basic basket. Families said they had great difficulty in accessing food, which was related to logistics, means of transport and payment methods. Another important factor was unemployment, which was a very strong limitation in accessing food, along with the fear of contagion when purchasing food. To test the hypothesis, a multiple linear regression model was used that allowed the determination of the main variables associated with the limitations of food security. In conclusion, the research determined that logistics, family income, unemployment, product prices, and psychological factors were the most important aspects that limit access to food in the context of COVID-19.

Resumo

Na emergência sanitária provocada pela COVID-19, surgiram vários problemas económicos e sociais, especialmente na segurança alimentar. A investigação visa determinar os fatores mais importantes que limitam o acesso aos alimentos durante a emergência sanitária no cantão de Riobamba, no Equador. Para tal foram utilizadas fontes de informação primárias através de um inquérito dirigido a 244 famílias de uma população de 65.853 famílias. O questionário foi elaborado com questões dicotómicas, estruturadas e em escala de Likert. Por outro lado, é utilizada informação secundária, através da consulta de documentos de organizações ligadas à gestão e administração da crise sanitária como o município e os centros de saúde, bem como a literatura relacionada com o fenómeno em estudo. Os resultados do inquérito mostram que os gastos das famílias com a alimentação são baixos e não cobrem o preço do cabaz alimentar. As famílias dizem ter grande dificuldade no acesso aos alimentos, o que está relacionado com a logística, os meios de transporte e as formas de pagamento. Outro factor importante é o desemprego, que é uma limitação muito forte no acesso aos alimentos, juntamente com o receio de contágio na compra de alimentos. Para testar a hipótese foi utilizado um modelo de regressão linear múltipla que permitiu conhecer as principais variáveis associadas às limitações da segurança alimentar. Concluindo, a investigação determina que a logística, o rendimento familiar, o desemprego, os preços dos produtos e os factores psicológicos são os aspectos mais importantes que limitam o acesso aos alimentos no contexto da COVID-19.

Introduction

The sustained increase in poverty and malnutrition are increasingly frequent issues in the social problems of many countries, despite being a topic of discussion since the 1970s. Few efforts have contributed to combat and overcome both poverty and malnutrition in vulnerable families (1,2), and this problem is associated with the lack of policies that guarantee food production (3), and on the other hand, that ensure the availability, distribution, and access of food to the population (4). The lack of food has a negative impact on the population, with diverse effects in the social and economic sphere; therefore, efforts must be made to promote policies and strengthen programs and strategies for food security (4).

Access to food is a fundamental component of food and nutrition security (5-15). The COVID-19 pandemic caused by the new coronavirus known as SARS-CoV-2 has affected every country in the world, the prevalence in Latin America has been similar to other countries in Europe, Asia or Africa, seriously compromising the food and nutritional security of the population (6). In many cases and for many reasons, the substitutes or alternative foods consumed were nutritionally inadequate. During the pandemic, the substitutes or alternative foods consumed were nutritionally inadequate in the urban context of the United States (14). Likewise, the population has tried to put aside government food programs (daily baskets) because they have not been able to fully satisfy their needs, looking for a safe and fast way to obtain food, without the help of government agencies or NGOs (non-governmental organizations), as it was in Nigeria (4,15).

In developing countries, the access to food is in jeopardy due to the sale price and economic uncertainty suffered by families, while in developed countries, the consumer has the purchasing power, but food is scarce (16-18). Food and nutritional status of the population in health emergency situations becomes a central issue for development agents because it compromises the health and well-being of the population, therefore, all efforts must be focused on the generation of spaces, plans, and strategies that guarantee food security and good nutrition (6).

Introduction

O aumento sustentado da pobreza e da malnutrição são questões cada vez mais frequentes nos problemas sociais de muitos países, apesar de serem tema de discussão desde a década de 1970. Poucos esforços contribuíram para combater e superar a pobreza e a malnutrição em famílias vulneráveis (1,2), e este problema está associado à falta de políticas que garantam a produção de alimentos (3), e por outro lado, garantam a disponibilidade, distribuição e acesso de alimentos à população (4). A falta de alimentos tem um impacto negativo na população, os efeitos são diversos na esfera social e econômica, por isso, os esforços devem ser no sentido de promover políticas e fortalecer programas e estratégias para a segurança alimentar (4).

O acesso aos alimentos é uma componente fundamental da segurança alimentar e nutricional (5-15). A COVID-19 pandemia causada do novo coronavírus conhecido como SARS-CoV-2 afetou todos os países do mundo, a prevalência na América Latina foi semelhante a outros países da Europa, Ásia ou África, comprometendo gravemente a segurança alimentar e nutricional da população (6). Em muitos casos e por muitas razões, os substitutos ou alimentos alternativos consumidos eram nutricionalmente inadequados. Durante a pandemia, os substitutos ou alimentos alternativos consumidos eram nutricionalmente inadequados no contexto urbano dos EUA (14). Da mesma forma, a população tem tentado deixar de lado os programas governamentais de alimentação (cabazes diários), por não ter conseguido satisfazer plenamente as suas necessidades, procurando uma forma segura e rápida de escoar os alimentos, sem a ajuda de organismos governamentais ou ONGs (organizações não governamentais) como foi na Nigéria (4,15).

Nos países em desenvolvimento, o acesso aos alimentos está em perigo, devido ao preço de venda e à incerteza econômica sofrida pelas famílias, enquanto nos países desenvolvidos, o consumidor tem o poder de compra, mas os alimentos são escassos (16-18). A alimentação e nutrição da população em situações de emergência sanitária torna-se uma questão central para os agentes de desenvolvimento, pois compromete a saúde e o bem-estar da população, por isso, todos os esforços devem estar focados na geração de espaços, planos e estratégias que garantam a segurança alimentar e

Good nutrition is a critical factor to face in a complex scenario such as the pandemic caused by COVID-19, whose consequences on health were unprecedented, with the deaths of entire families and significant consequences to the survivors, in addition to the consequences to the food system resulting from the limitations in access to them.

Access to food in Latin American countries is increasingly limited, with low production yields, low economic incomes, and low educational levels, which prevent access to a healthy diet that guarantees a quality of life (3,19,20). This is closely related to the nutritional value of foods that promote good health (21,22). Further, the quantity and quality of food in homes are affected when families include more than five members, since food distribution must be rationed for all members of the household, and this can cause insufficient caloric intake in consumers (23).

Access to food in vulnerable populations is increasingly complex because malnutrition due to lack of food is increasing; in addition to the diseases that afflict different age groups, they are usually suffered by people who live in areas without basic services, and it is related to the difficulty in accessing food (24–26), so the most difficult scenario is for food security, corresponding to the threat of exogenous factors, such as COVID-19, that disrupt food production and access to it (27–29).

Food security is composed of three pillars: availability, access, and consumption of food. Availability refers to the existence of a sufficient quantity of adequate and nutritious food at the regional or national level; access to the physical, economic and social availability of quality and quantity of food; the use for the preparation and consumption of food in the form in which food is consumed, that is, in optimal conditions (13,24,30-36). On the other hand, food sovereignty is the right that States and peoples have to determine sovereign agrarian policies, aimed at defending peasant family production, as well as the duty to guarantee the human right to food of the entire population, respecting the cultural peculiarities of the peoples (31,37-42).

boa nutrição (6), sendo a boa nutrição o fator mais importante para enfrentar um cenário complexo como a pandemia causada pela COVID-19, cujas consequências na saúde foram sem precedentes, a morte de famílias inteiras e que algumas ficaram com consequências significativas, para além das consequências no sistema alimentar que estavam focadas nas limitações de acesso aos mesmos.

Da mesma forma, o acesso aos alimentos nos países da América Latina é cada vez mais limitado, com baixos rendimentos produtivos, baixos rendimentos económicos e baixos níveis educacionais, o que impede o acesso a uma alimentação saudável que garanta qualidade de vida (3,19,20). Isto está intimamente relacionado com o valor nutricional dos alimentos que garantem uma boa saúde (21,22). Ou seja, a quantidade e a qualidade dos alimentos nos agregados familiares são afectadas quando existem famílias constituídas por mais de cinco membros, uma vez que a distribuição dos alimentos deve ser racionada para todos os membros do agregado familiar, e isto pode provocar uma ingestão calórica insuficiente nos consumidores (23).

O acesso aos alimentos nas populações vulneráveis é cada vez mais complexo porque a malnutrição devido à falta de alimentos está a aumentar; para além das doenças que atingem diferentes faixas etárias, são geralmente sofridas por pessoas que vivem em zonas sem serviços básicos e estão relacionadas com a dificuldade de acesso aos alimentos (24-26), pelo que o cenário mais difícil é para a segurança alimentar, correspondendo à ameaça de factores exógenos, como a COVID-19, que perturbam a produção de alimentos e o acesso aos mesmos (27–29).

A segurança alimentar é composta por três pilares: disponibilidade, acesso e consumo de alimentos. A disponibilidade refere-se à existência de uma quantidade suficiente de alimentos adequados e nutritivos a nível regional ou nacional; acesso à disponibilidade física, económica e social de alimentos em qualidade e quantidade; a utilização para a preparação e consumo dos alimentos na forma em que os alimentos são consumidos, ou seja, em condições ótimas (13,24,33-36); por outro lado, a soberania alimentar é o direito que os Estados e os povos têm de determinar políticas agrárias soberanas, destinadas a defender a produção familiar camponesa, bem como o dever de garantir o direito humano à alimentação de toda a população, respeitando as peculiaridades culturais de toda a população (31,37-42).

This phenomenon is present in a large part of the Ecuadorian territory, especially in families that live in rural areas, but with much more force in the urban areas due to the restrictions implemented by the Ecuadorian government, which cause other types of problems in the field of health (47,48). This problem, being recent, has not been addressed from the perspective of food security in the context of COVID-19 in Ecuador and, specifically, in the city of Riobamba.

Access to food in vulnerable populations is increasingly complex because malnutrition due to lack of food is on the rise; in addition to diseases that affect different age groups, they are generally suffered by people living in areas without basic services and are related to the difficulty of accessing food (24-26). It should be noted that food security is a transcendental right of the population, the exercise of this right represents constant access to the minimum sources of food required under equal social, political, environmental and economic conditions for the inhabitants (27-31); the frequent access of food that satisfies the energy-calorie needs of the population results in food security and a better quality of life for people and social well-being of the population (32-36).

During the last years, the health emergency caused by COVID-19 has had a significant impact on food security, becoming an external factor that determined access to food (37-42). From the point of view of food security, the health emergency that the population experienced created a crisis in the access and consumption of safe food, generating social and economic problems (27,37,40), and especially in the limitations to achieve a good diet that ensures both the nutrients and the required calories and in addition to complementary feeding, but the pandemic crisis did not allow equitable access in the population in all cases (43-47).

Food insecurity has worsened with the arrival of COVID-19, forcing all governments in the world to address a new challenge in terms of public policies, since the pandemic does not differentiate sectors or territories or economics (48). The studies conducted in developed countries are more comprehensive than those in Latin America, with an approach aimed at eradicating the underlying problem instead of adopting a temporary palliative care approach. They were oriented towards environmental health and air hygiene as a means of transporting diseases and polluting gases (49).

Este fenómeno está presente em grande parte do território equatoriano, principalmente nas famílias que vivem na zona rural, mas com muito mais força na zona urbana, devido às restrições implementadas pelo governo equatoriano, causando outro tipo de problemas na área da saúde (47,48). Este problema, por ser recente, não foi abordado na perspectiva da segurança alimentar no contexto da COVID-19 no Equador e, especificamente, na cidade de Riobamba.

O acesso aos alimentos nas populações vulneráveis é cada vez mais complexo porque a malnutrição devido à falta de alimentos está a aumentar; Para além das doenças que atingem diferentes faixas etárias, são geralmente sofridas por pessoas que vivem em zonas sem serviços básicos e estão relacionadas com a dificuldade de acesso aos alimentos (24-26). Note-se que a segurança alimentar é um direito transcendental da população, o exercício deste direito representa o acesso constante às fontes mínimas de alimentos exigidas em igualdade de condições sociais, políticas, ambientais e económicas para os habitantes (27-31); o acesso frequente a alimentos que satisfaçam as necessidades calórico-energéticas da população resulta em segurança alimentar e melhor qualidade de vida para as pessoas e bem-estar social da população (32-36).

Durante os últimos anos, uma emergência sanitária causada pela COVID-19 teve um impacto significativo na segurança alimentar, tornando-se num factor externo que determinou o acesso aos alimentos (37-42); A emergência sanitária que a população atravessa significa, do ponto de vista da segurança alimentar, uma crise no acesso e consumo de alimentos seguros, gerando problemas sociais e económicos (27,37,40), e especialmente nas limitações para alcançar uma boa alimentação que garanta tanto os nutrientes como as calorias necessárias e além da alimentação complementar, mas a crise pandémica não permitiu em todos os casos, e o acesso equitativo da população (43-47).

A insegurança alimentar agravou-se com a chegada da COVID-19, obrigando todos os governos do mundo a assumi-la como um novo desafio em termos de políticas públicas, uma vez que a pandemia não diferencia sectores ou territórios ou economia (48). Os estudos realizados nos países desenvolvidos são mais abrangentes do que os da América Latina, com uma abordagem que visa erradicar o problema subjacente em vez de adoptar uma abordagem paliativa e de cuidados temporários. Estão orientados para a saúde ambiental e para a higiene do ar, como meio de transporte de doenças e gases poluentes (49).

This problem also generates great concern in Latin American countries, with Brazil being the country with a growing trend of food insecurity, possibly the epicenter of hunger (50). In Mexico, the same reality is also observed, with increasing precariousness that has increased the difficulty in food availability, access, and consumption, intensifying the food crisis in the midst of a health emergency (51). Food availability in Latin American countries such as Ecuador, Peru, Colombia, Venezuela, Bolivia, and El Salvador, among others, is aggravated by factors such as unemployment, fear of contagion, logistics, among other factors (52,53). Studies reflect that the lack of accurate information also contributed to massive contagion in the workplaces, which ended up causing people to quit their jobs, compromising food security at home (54,55).

This phenomenon is present in Ecuador, especially in families living in rural areas, but with much greater force in urban areas due to the restrictions implemented by the Ecuadorian government, causing other types of problems in the field of health (56). This problem, being recent, has not been addressed from the perspective of food security in the context of COVID-19 in Ecuador and, specifically, in the city of Riobamba.

Riobamba is located at 2,754 meters above sea level at 1° 41' 46" South latitude: 0° 3' 36" Western longitude of the Quito meridian. This is due to its location near the Chimborazo volcano. It also has an area of around 990 km², made up of 5 urban parishes and 11 rural parishes which are limited to the north by the cantons of Guano and Penipe, to the south by Colta and Guamote, to the east by Chambo and Morona Santiago and to the west by the provinces of Bolívar and Guayas. Its location in the center of the country allows a direct connection between the coast and the eastern Ecuadorian east (Figure 1).

The population of Riobamba is characterized by a significant percentage of indigenous people who are not very knowledgeable about the importance of consuming healthy foods. In the health emergency caused by COVID-19, the access and consumption of healthy foods were significantly affected by the closure of the markets and the increase in prices. The importance of the study lies in the approach to a complex, current and necessary issue for a country and a region with high rates of food insecurity, and given the problem of COVID-19, the most vulnerable population was exposed to a health problem without

Este problema gera também grande preocupação nos países da América Latina, sendo o Brasil o país com tendência crescente de insegurança alimentar, possivelmente o epicentro da fome (50). No México também se observa a mesma realidade, com uma crescente precariedade que aumentou a dificuldade de disponibilidade, acesso e consumo de alimentos, intensificando a crise alimentar em plena emergência sanitária (51). A disponibilidade de alimentos em países da América Latina como o Equador, Peru, Colômbia, Venezuela, Bolívia e El Salvador, entre outros, é agravada por fatores como o desemprego, o medo de contágio, a logística, entre outros fatores (52,53). Os estudos refletem que a falta de informação precisa também contribuiu para o contágio massivo nos locais de trabalho, o que acabou por fazer com que as pessoas abandonassem os seus empregos, comprometendo a segurança alimentar em casa (54,55).

Este fenómeno está presente no Equador, especialmente nas famílias que vivem em zonas rurais, mas com muito maior força nas zonas urbanas, devido às restrições implementadas pelo governo equatoriano, causando outro tipo de problemas no âmbito da saúde (56). Este problema, por ser recente, não foi abordado na perspectiva da segurança alimentar no contexto da COVID-19 no Equador e, especificamente, na cidade de Riobamba.

Riobamba situa-se a 2.754 metros acima do nível do mar, a 1° 41' 46" de latitude sul; 0° 3' 36" Longitude oeste do meridiano de Quito. Isto deve-se à sua localização próxima do vulcão Chimborazo. Possui ainda uma área de cerca de 990 km², constituída por 5 freguesias urbanas e 11 freguesias rurais. Que se limitam a norte com os cantões de Guano e Penipe, a sul com Colta e Guamote, a leste com Chambo e Morona Santiago e a oeste com as províncias de Bolívar e Guayas. A sua localização no centro do país permite uma ligação direta entre o litoral e o leste equatoriano (Figura 1).

A população de Riobamba é caracterizada por uma percentagem significativa de indígenas que não têm muito conhecimento sobre a importância do consumo de alimentos saudáveis. Na emergência sanitária causada pela COVID-19, o acesso e o consumo de alimentos saudáveis foram significativamente afectados pelo encerramento dos mercados e pelo aumento dos preços. A importância do estudo reside na abordagem de uma questão complexa, atual e necessária para um país e uma região com elevados índices de insegurança alimentar, e perante o problema da COVID-19, a população mais vulnerável ficou exposta a um problema de saúde

precedent. In this context, the research aimed to determine the most important factors that limit access to food during the health emergency in the canton of Riobamba, Ecuador.

Materials and Methods

The type of research is descriptive correlational because, on the one hand, it describes the phenomenon of study in its dimension and context, while on the other, it seeks to determine associations and correlations between the study variables. It incorporates primary sources from the construction and application of a questionnaire directed to 244 families that represent the sample from a population of 65,853 households in the city of Riobamba, according to data from the National Institute of Statistics and Census. The sample was determined by taking into account the total number of existing households, and the questionnaire included dichotomous, structured and Likert scale questions. The study also takes into account secondary sources such as

sem precedentes. Neste contexto, a investigação visava determinar os fatores mais importantes que limitam o acesso aos alimentos durante a emergência sanitária no cantão de Riobamba, Equador.

Material e Métodos

O tipo de investigação é descritivo correlacional porque, por um lado, descreve o fenômeno de estudo na sua dimensão e contexto; por outro lado, procura associar e correlacionar entre as variáveis do estudo. Incorpora fontes primárias provenientes da construção de um questionário e da aplicação de um inquérito dirigido a 244 famílias que representam a amostra, de uma população de 65.853 domicílios da cidade de Riobamba, segundo dados do Instituto Nacional de Estatística e Censos; para a amostra é determinado tendo em conta o número total de agregados familiares existentes; o questionário continha questões dicotômicas, estruturadas e em escala de Likert; o estudo tem também em conta fontes secundárias, como documentos de

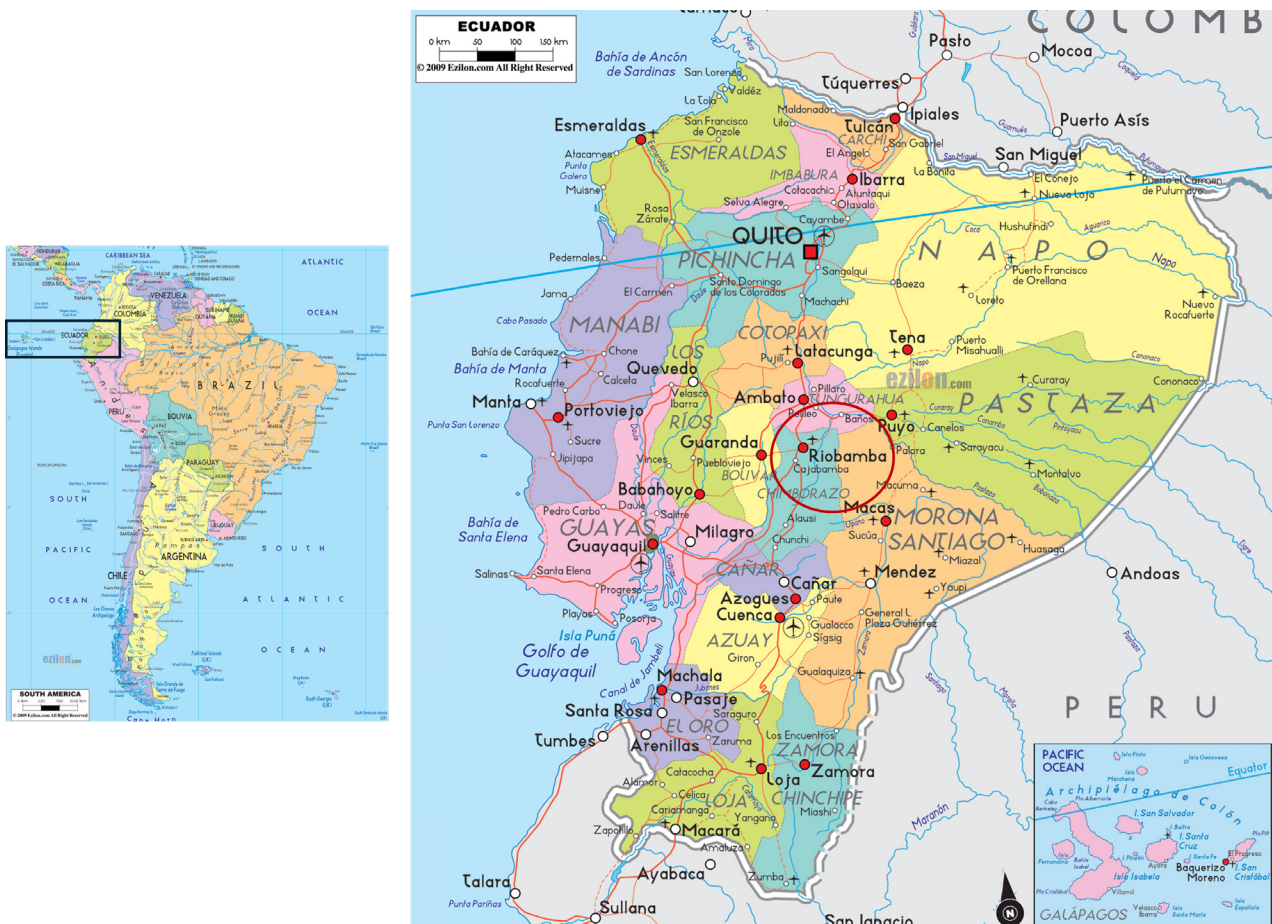


Figure 1 - Map of Ecuador, indicating the location of the city of Riobamba. Adapted from <https://www.ezilon.com/maps/south-america>

Figura 1 - Mapa do Equador, indicando a localização da cidade de Riobamba. Adaptado de <https://www.ezilon.com/maps/south-america>

documents from local organizations related to the guidelines and regulations that restricted people from going out to the street and to the market. The survey was conducted between June and July 2020. Some families did not want to take the survey due to exposure to COVID-19 contagion, creating one of the limitations to the data collection process, although the decision to conduct the surveys in person was made to improve data precision. The sample was calculated based on the universal formula for finite populations, extracted from the National Institute of Statistics of Ecuador:

p (probability) = 0.5
 N (population) = 56,435
 z (confidence level) = 94% (1.88)
 e (error) = 0.06

$$n = \frac{z^2 p(1-p) N}{e^2 N + z^2 p(1-p)}$$

$$n = \frac{1.88^2 \times 0.5(1-0.5) \times 56435}{0.06^2 \times 56435 + 1.88^2 \times 0.5(1-0.5)}$$

$$n = 244$$

The research proposed the following hypothesis: H1. Logistics, family income, unemployment, product prices and psychological factors are the aspects that limit access to food in the context of COVID-19, compromising the food security of the population of Riobamba. The variables were determined through previous survey work carried out by the researchers, where it was observed that logistics (transport to markets), family income, unemployment, product prices and psychological factors (fear) are the main factors that limit access to food for the population, so the research prioritizes these variables. The idea was to identify the main limitations that exist mainly in access to food. To do this, the hypothesis was tested through the multiple linear regression model using the Statistical Product and Service Solutions (SPSS) software. It also assumed secondary sources, such as consultations of documents generated by institutions linked to public health, food and the production of agricultural products, such as specialized literature in the study of variables. Likewise, the research took into account secondary sources such as documents and reports from the Municipal Government of Riobamba related to the type of provisions or decrees issued by this body regarding restrictions in the pandemic, as well as data from the National Institute of Statistics and Censuses of Ecuador.

organizações locais relacionados com as diretrizes e regulamentos que restringiam a saída das pessoas à rua e ao mercado. O inquérito foi realizado entre junho e julho de 2020. Uma das limitações no processo de recolha de dados foi que algumas famílias não quiseram realizar o inquérito devido à exposição ao contágio da COVID-19, embora a decisão de realizar os inquéritos pessoalmente tenha sido tomada para melhorar a precisão dos dados. A amostra é calculada com base na fórmula universal para populações finitas, extraída do Instituto Nacional de Estatística do Equador:

p (probabilidade) = 0.5
 N (população) = 56,435
 z (intervalo de confiança) = 94% (1.88)
 e (erro) = 0.06

$$n = \frac{z^2 p(1-p) N}{e^2 N + z^2 p(1-p)}$$

$$n = \frac{1.88^2 \times 0.5(1-0.5) \times 56435}{0.06^2 \times 56435 + 1.88^2 \times 0.5(1-0.5)}$$

$$n = 244$$

A investigação propôs a seguinte hipótese: H1. A logística, o rendimento familiar, o desemprego, os preços dos produtos e os fatores psicológicos são os aspetos que limitam o acesso aos alimentos no contexto da COVID-19, comprometendo a segurança alimentar da população de Riobamba. As variáveis foram determinadas através de um trabalho de levantamento prévio realizado pelos investigadores, onde se observou que a logística (transporte para os mercados), o rendimento familiar, o desemprego, os preços dos produtos e os fatores psicológicos (medo) são os principais fatores que limitam o acesso aos alimentos para a população, pelo que a investigação prioriza estas variáveis. A ideia era identificar as principais limitações que existem sobretudo no acesso aos alimentos. Para tal, a hipótese foi testada através do modelo de regressão linear múltipla com recurso ao software Statistical Product and Service Solutions (SPSS). Assume ainda fontes secundárias, como as consultas a documentos gerados por instituições ligadas à saúde pública, à alimentação e à produção de produtos agrícolas, como literatura especializada no estudo de variáveis. Da mesma forma, a pesquisa teve em conta fontes secundárias como documentos e relatórios da Prefeitura Municipal de Riobamba relacionados com o tipo de disposições ou decretos emitidos por este órgão em relação às restrições na pandemia, bem como dados do Instituto Nacional de Estatística e Censos do Equador.

Results

The results presented below come from the data collection product of the survey applied to 244 people that made up the sample, of which 57% corresponded to the female gender, followed by 43% to the male gender. Most respondents were between 15 and 40 years old, with 89% and 11% older than 40 years. The area with the highest influx was urban with 70%, followed by 30% belonging to rural areas, 20% had a university academic instruction, 42% had completed high school, and 38% between primary and without academic training. There was a significant percentage of the population with academic education, which meant that there were professionals trained to opt for jobs of a higher intellectual degree than physical effort, with the possibility of obtaining a salary higher than the basic one (400 dollars, corresponding to approximately 384 Euros). The level of income of the 51% of those surveyed was less than 400 dollars a month. Table 1 shows the average household expenditure on food.

The survey revealed that 43% of households were made up of five or more members, of which 59% indicated that four or more family members work. On average, these families spent between 1 and 200 dollars on food, according to 47.1%; and only 2.5% have an income of \$804 or more. The results of the survey show that despite being large families, spending on food was low, and that it did not cover the price of the basic food basket for four people. Table 2 shows the level of difficulty in the logistics of access to food.

Of the families surveyed, 70.1% considered that they had a very high difficulty in accessing food and in relation to logistical issues (transport to markets, supply centers that use the products, payment methods); followed by high difficulty of 21.3%, allocation to means of transport and payment methods. Likewise, unemployment had an important influence on access to food, reaching 34.5%; factors such as the increase in the prices of certain products in the family basket, was also observed as a limitation, reaching 22.5%. Finally, it was observed that the fear of contagion was a factor that prevents some families, 21.6%, from resorting to marketing centers or other ways of purchasing products.

Resultados

Os resultados apresentados a seguir provêm do produto de recolha de dados do inquérito aplicado às 244 pessoas que compõem a amostra, das quais 57% correspondem ao género feminino, seguido de 43% ao género masculino. A maioria dos inquiridos tinha entre 15 e 40 anos, sendo que 89%, e 11% tinham mais de 40 anos. A zona com maior afluência foi a urbana com 70%, seguida de 30% pertencentes ao meio rural, 20% tinham formação académica universitária, 42% tinham o ensino secundário completo e 38% entre o ensino primário e sem formação académica. Existia uma percentagem significativa da população com formação académica, o que significa que existiam profissionais capacitados para optar por empregos de grau intelectual superior ao esforço físico, com possibilidade de obter um salário superior ao básico (400 dólares, correspondente a cerca de 384 euros). O nível de rendimento dos 51 % dos inquiridos era inferior a 400 dólares por mês. A Tabela 1 mostra a despesa média das famílias com a alimentação.

O inquérito revela que 43% dos agregados familiares eram compostos por cinco ou mais membros, dos quais 59% indicaram que quatro ou mais membros da família trabalham. Em média, estas famílias gastam entre 1 e 200 dólares em alimentação, segundo 47,1%; e apenas 2,5% têm um rendimento de 804 dólares ou mais. Os resultados da investigação mostram que apesar de serem famílias numerosas, os gastos com a alimentação são baixos, e que não cobrem o preço do cabaz alimentar para quatro pessoas. A Tabela 2 mostra o nível de dificuldade na logística de acesso aos alimentos.

Das famílias inquiridas, 70,1% consideraram que têm uma dificuldade muito elevada no acesso aos alimentos e em relação a questões logísticas (transporte para os mercados, centros de abastecimento que utilizam os produtos, formas de pagamento); seguida de uma elevada dificuldade de 21,3%, afetação aos meios de transporte e aos meios de pagamento. Da mesma forma, o desemprego teve uma influência importante no acesso aos alimentos, atingindo os 34,5%; fatores como o aumento dos preços de determinados produtos do cabaz familiar são também observados como limitação, atingindo os 22,5%. Por fim, observou-se que o receio do contágio, 21,6%, foi um fator que impede algumas famílias de recorrerem a centros de comercialização ou outras formas de aquisição de produtos.

Table 1 - Average food expenditure.

Tabela 1 - Gasto médio com a alimentação

	Frequency / Frequência	Percentage / Porcentagem	Valid percentage / Porcentagem válida	Cumulative percentage / Porcentagem cumulativa
Classification / Classificação	\$1 - \$200	117	47.1	47.1
	\$201 - \$401	87	35.7	82.8
	\$402 - \$602	28	11.5	94.3
	\$603 - \$803	8	3.3	97.5
	\$804 or more / \$804 o mas	6	2.5	100
	Total	244	100	100

Source: Own elaboration / Fonte: Elaboração própria

Table 2 - Level of difficulty in the logistics of access to food.

Tabela 2 - Nível de dificuldade na logística de acesso aos alimentos.

	Frequency / Frequência	Percentage / Porcentagem	Valid percentage / Porcentagem válida	Cumulative percentage / Porcentagem cumulativa
Classification / Classificação	Very low / Muito baixo	11	4.5	4.5
	Low / Baixo	6	2.5	7.0
	None / Nenhum	4	1.6	28.3
	High / Elevado	52	21.3	29.9
	Very high / Muito elevado	171	70.1	100
	Total	244	100	100

Source: Own elaboration / Fonte: Elaboração própria

The responses of the respondents revealed that there were no programs or strategies of public and private institutions so that the population has products and access to them was sustained in the COVID-19 pandemic.

However, initiatives established by foundations, NGOs and local government gave families access to safe food during the health crisis, provided economic incentives for those who were unemployed or whose businesses had been suspended, and reactivated economic fairs to promote small and medium-sized businesses. In the private sector, there were strict personal hygiene systems and food supply infrastructures, and the use of e-commerce was encouraged. Having a balanced and sufficient food supply will prevent the population from deteriorating in their physical and mental health, which will strengthen their immune system, and families will have less risk of contagion from COVID-19.

As respostas dos entrevistados revelaram que não existiram programas ou estratégias de instituições públicas e privadas para que a população tivesse produtos e o acesso aos mesmos seja sustentado na pandemia da COVID-19.

No entanto, iniciativas estabelecidas de fundações, ONG e governo local permitiram às famílias o acesso a alimentos seguros durante a crise sanitária, foi fornecer incentivos económicos a quem estava desempregado ou cujos negócios sofreram suspensão das suas actividades, e reactivação económica feiras de promoção de pequenos e médios negócios. No sector privado, existiam sistemas rigorosos de higiene pessoal e infra-estruturas de abastecimento alimentar, e o uso do comércio electrónico era incentivado. Ter uma fonte alimentar equilibrada e suficiente evitará que a população se deteriore na sua saúde física e mental, o que permitirá fortalecer o seu sistema imunitário, e as famílias terão menos risco de contágio da COVID-19.

To test the hypothesis, linear multiple regression was used to identify the main variables that limit access to food: H1.

$$Y_t = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_3 + \beta_4x_4 + \beta_5x_5 + \varepsilon$$

Where:

Y_t = dependent variable (access to food, AF)

X_1 = independent variable (logist, LOG)

X_2 = independent variable (family income, IF)

X_3 = independent variable (unemployment, U)

X_4 = independent variable (product prices, PP)

X_5 = independent variable (psychological factors, PF)

$$Y(\text{access to food}) = \beta(\text{LOG}) + \beta_1(\text{IF}) + \beta_2(\text{U}) + \beta_3(\text{U}) + \beta_4(\text{PP}) + \beta_5(\text{PF}) + \varepsilon$$

$$Y(2.2) = \beta_0 + \beta(0.98) + \beta_2(0.84) + \beta_3(0.8) + \beta_4(0.77) + \beta_5(0.65) + \varepsilon$$

As can be seen in Table 3, the correlation coefficient explains 82.1% of the relationship between the variables; the coefficient of determination was 61.3%, that is, access to food in the context of COVID-19 was determined in its limitation by the logistics variables, family income, unemployment, price of products and psychological factors. The value of sigma was 0.00, less than 0.05, and thus the proposed hypothesis was accepted. Logistics, family income, unemployment, product prices and psychological factors were the aspects that limited access to food in the context of COVID-19, compromising the food security of the Riobamba population. A separate analysis was also carried out to determine which of the variables is the most influential in food security, using Cronbach's alpha, determining that the variables economic income and unemployment were the most significant, whose coefficients reach 0.60 and 0.58 respectively.

It should be noted that psychological factors related to fear of contagion and exposure when purchasing products was an aspect revealed by the respondents; in fact, it was demonstrated when the visit was made to their home, they were resistant to starting a conversation and providing information. This element was considered in the sample size, which is why a confidence level of 0.94 was considered and the sample was made up of 244 heads of household, due to this limitation on information. On the other hand, psychological factors were linked to job loss; the survey revealed that 22.5% of the population surveyed was fired from their jobs; however, 9.3% decided to

Para testar a hipótese, utilizou-se a regressão linear múltipla para identificar as principais variáveis que limitam o acesso aos alimentos: H1.

$$Y_t = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_3 + \beta_4x_4 + \beta_5x_5 + \varepsilon$$

Onde:

Y_t = variável dependente (acesso a alimentos, AA)

X_1 = variável independente (logista, LOG)

X_2 = variável independente (rendimento familiar, RF)

X_3 = variável independente (desemprego, D)

X_4 = variável independente (preços dos produtos, PP)

X_5 = variável independente (factores psicológicos, FP)

$$Y(\text{acesso a alimentos}) = \beta(\text{LOG}) + \beta_1(\text{IF}) + \beta_2(\text{U}) + \beta_3(\text{U}) + \beta_4(\text{PP}) + \beta_5(\text{PF}) + \varepsilon$$

$$Y(2.2) = \beta_0 + \beta(0.98) + \beta_2(0.84) + \beta_3(0.8) + \beta_4(0.77) + \beta_5(0.65) + \varepsilon$$

Como se pode observar na Tabela 3, o coeficiente de correlação explica 82,1% da relação entre as variáveis; o coeficiente de determinação foi de 61,3%, ou seja, o acesso aos alimentos no contexto da COVID-19 foi determinado na sua limitação pelas variáveis logísticas, rendimento familiar, desemprego, preço dos produtos e fatores psicológicos. O valor do sigma foi 0,00, inferior a 0,05, e assim a hipótese proposta é aceite. A logística, o rendimento familiar, o desemprego, os preços dos produtos e os fatores psicológicos foram os aspectos que limitaram o acesso aos alimentos no contexto da COVID-19, comprometendo a segurança alimentar da população de Riobamba. Foi também realizada uma análise separada para determinar qual das variáveis é mais influente na segurança alimentar, através do alfa de Cronbach, determinando que as variáveis rendimento económico e desemprego foram as mais significativas, cujos coeficientes atingem 0,60 e 0,58 respetivamente.

De salientar que os fatores psicológicos relacionados com o medo de contágio e exposição na compra de produtos foi um aspeto revelado pelos entrevistados; aliás, foi demonstrado que, quando a visita foi feita em sua casa, mostraram resistência em iniciar uma conversa e fornecer informações. Este elemento foi considerado no tamanho da amostra, pelo que se considera um nível de confiança de 0,94 e a amostra foi constituída por 244 chefes de família, devido a esta limitação de informação. Por outro lado, os factores psicológicos estão ligados à perda de emprego; o inquérito revela que 22,5% da população inquirida foi despedida; no entanto,

Table 3 - Summary of the model.

Tabela 3 - Resumo do modelo.

Model / Modelo	R	R2	R2 corrected / R2 corrigido	Error tip / Dica de erro	Sigma
1	0.821	0.613	0.354	0.062	0

quit their jobs, and this fact had a negative impact on the family's income, consequently compromising food security in these homes.

Another important aspect to highlight is the prevalence of child malnutrition in the Chimborazo province (Riobamba), which is the highest in the country, being 51% in 2018, and 51.8% in 2019, severely affecting the health and well-being of this group; the data do not differ in the older adult population (57). Additionally, the families that did not receive a salary in the health emergency are focused on those dedicated to informal commerce, due to the same restrictions imposed by the central government, a similar situation occurred in neighboring countries. These aspects have an important relationship with the results of the investigation.

Discussion

Food security has become an increasingly difficult challenge to achieve, where the population is influenced by their lifestyle, their education, their commercial activities and the lack of private and governmental regulations (13). In this way, it is related to the argument that food security depends on the effective management of public health, the economic activities carried out in the home, age, educational level, saving capacity and number of members of the household family, and public policies, among others (58). There are studies that show that 17% of families in Ecuador suffer from severe food insecurity due to living in conditions of poverty and food shortages, standing out as one of the countries with the greatest problem in terms of food security (31). In Riobamba, one of the cities that concentrates a significant percentage of the indigenous population living in poverty, with the phenomenon of COVID-19, food security problems were much more visible and accentuated with greater force. In the area, the main source of food are primary products such as grains, tubers, greens and vegetables, but they are not enough to complete the diet and the necessary caloric energy level, so they need to acquire other sources to complement their diet (59).

9,3% decidiram abandonar o emprego, facto que se repercutiu negativamente no rendimento familiar, comprometendo consequentemente a segurança alimentar nestes lares.

Outro aspeto importante a destacar é que a prevalência da malnutrição infantil na província de Chimborazo (Riobamba), que é a mais elevada do país, sendo de 51% em 2018 e 51,8% em 2019, afetando gravemente a saúde e o bem-estar deste grupo; os dados não diferem na população idosa (57). E, as famílias que não receberam salário na urgência sanitária concentram-se nas que se dedicam ao comércio informal, devido às mesmas restrições impostas pelo governo central, situação semelhante ocorreu nos países vizinhos. Estes aspetos têm uma relação importante nos resultados da investigação.

Discussão

A segurança alimentar tornou-se um desafio cada vez mais difícil de alcançar, onde a população é influenciada pelo seu estilo de vida, pela sua educação, pelas suas actividades comerciais e pela falta de regulamentos privados e governamentais (13). Desta forma, relaciona-se com o argumento de que a segurança alimentar depende da gestão eficaz da saúde pública, das actividades económicas realizadas no domicílio, da idade, do nível de escolaridade, da capacidade de poupança e do número de membros do agregado familiar, e de políticas públicas. Existem estudos que mostram que no Equador 17% das famílias sofrem de grave insegurança alimentar por viverem em condições de pobreza e escassez alimentar, destacando-se como um dos países com maiores problemas em termos de segurança alimentar (31). Em Riobamba, uma das cidades que concentra uma percentagem significativa da população indígena que vive na pobreza, com o fenómeno da COVID-19, os problemas de segurança alimentar foram muito mais visíveis e acentuaram-se com maior força. Na região, a principal fonte de alimentação são os produtos primários como os

The investigation reveals that there are several limitations in the access to food security of the population, among them is the family income. This element was affected due to the fact that there were layoffs and access to the labor market was restricted due to the closure of several companies and business units, this result coincides with other research that suggests that the limitations or problems that existed to guarantee food security during the health emergency caused by COVID-19 were focused on low economic income and precarious purchasing power in families (37). Others, on the other hand, report that the low income of families in the pandemic has negatively influenced access to food and, as a consequence, the low intake of calories and nutrients that ultimately influenced the health of the population (60,61).

An important aspect revealed by the research is related to logistics, understood as the transport of people to the markets, since these were closed due to regulations and restrictions of the local government, thus leaving the transport sector to operate, similar studies show that, indeed, logistics have negatively influenced access to supply centers or markets to buy food, they affirm that mobility to these centers was limited and restricted, which did not contribute positively to access to food (62-64). In this line, research affirms that access to healthy food is interrupted due to lack of transportation and concrete plans that contribute to the transportation not only of people, but also of the same products to cities and markets (42,65,66). Likewise, the research revealed that psychological factors influence access to food, specifically fear of contagion. Regarding this result, other investigations agree that reveal that ignorance of the pandemic exposed humanity to uncertainty that was reflected in the population's fear of contagion (67-70), but that the limitation to food can create other problems such as obesity, mainly in the adult population (71,73), which affected the resilience of populations against COVID-19 (74).

The research establishes the impact of unemployment on access to food, due to the closure of businesses and the restrictions imposed that severely affected trade; some research pays special attention to

grãos, tubérculos, verduras e legumes, mas não são suficientes para completar a dieta e o nível de energia calórica necessária, pelo que necessitam de adquirir outras fontes para complementar a sua dieta (59).

A investigação revela que existem várias limitações no acesso à segurança alimentar da população, entre elas está o rendimento familiar. Este elemento foi afetado devido ao facto de terem ocorrido despedimentos e o acesso ao mercado de trabalho ter sido restringido devido ao encerramento de várias empresas e unidades de negócio, este resultado coincide com outras pesquisas que sugerem que as limitações ou problemas que existiram para garantir a segurança alimentar durante a emergência sanitária causada pela COVID-19 centraram-se no baixo rendimento económico e no poder de compra precário das famílias (37). Outros, por outro lado, referem que o baixo rendimento das famílias na pandemia influenciou negativamente o acesso aos alimentos e, como consequência, a baixa ingestão de calorias e nutrientes que acabou por influenciar a saúde da população (60,61).

Um aspeto importante revelado pela pesquisa está relacionado com a logística, entendida como o transporte de pessoas para os mercados, uma vez que estes foram encerrados devido às regulamentações e restrições do governo local, deixando assim o funcionamento do setor dos transportes, estudos semelhantes mostram que De facto, a logística influenciou negativamente o acesso aos centros de abastecimento ou mercados para comprar alimentos, afirmam que a mobilidade para estes centros foi limitada e restrita, o que não contribuiu positivamente para o acesso aos alimentos (62-64). Nesta linha, as pesquisas afirmam que o acesso a uma alimentação saudável é interrompido por falta de transportes e de planos concretos que contribuam para o transporte não só de pessoas, mas também dos mesmos produtos para as cidades e mercados (42,65,66). Da mesma forma, a investigação revelou que os factores psicológicos influenciam o acesso aos alimentos, concretamente o medo do contágio; Sobre este resultado, concordam outras investigações que revelam que o desconhecimento da pandemia expôs a humanidade à incerteza que se refletiu no medo do contágio da população (67-70), mas que a limitação à alimentação pode criar outros problemas como a obesidade, principalmente na população adulta (71,73), o que afetou a resiliência das populações contra a COVID-19 (74).

A investigação estabelece impacto do desemprego no acesso aos alimentos, devido ao encerramento de empresas e às restrições impostas que afectaram

unemployment, as a factor that limited the purchase of certain products in the family basket, because it decreased the purchasing power of families, thus compromising access to healthy food and the low level of food and nutrient intake (75,76). Similar studies such as in Africa, reflect that indeed, unemployment negatively influenced access to food, consequently food security (77,78), as well as in Asian countries, due to unemployment in the COVID-19 period affecting both the availability and access to food (52). Likewise, in the United States, the same correlation of the variables analyzed was observed (54). In the case of Latin America, studies revealed that higher unemployment in the pandemic derived from COVID-19 led to difficulties in accessing food, and food security was compromised (50,79). Finally, due to the restrictions imposed and the lack of transportation, food prices rose, which negatively affected the population's access to food; this finding coincides with other research that establishes that the high prices of food products in the pandemic did not contribute favorably to the most vulnerable families, reducing the possibility of families consuming nutrients and basic foods (80).

From this perspective, the study is one of the first in its analysis of the limitations of this population regarding access to food. Two notable features can be highlighted – first, the generation of knowledge and its contribution to the scientific community, and second, it collects inputs for forecasting and decision-making in the event of an identical adverse event occurring in other regions of the world with geographies or populations similar to those studied in this work.

Conclusion

The research establishes that logistics, family income, unemployment, product prices and psychological factors were the aspects that limit access to food in the context of COVID-19 in Riobamba. Among the most relevant factors was unemployment due to layoffs or retirements that occurred in companies or the closure of family businesses; logistics such as transportation to local markets or provincial trips limited access to food.

gravemente o comércio; algumas pesquisas dão especial atenção ao desemprego, como factor que limitava a compra de certos produtos na cesta familiar, porque diminuía o poder de compra das famílias, comprometendo assim o acesso a alimentos saudáveis e o baixo nível de ingestão de alimentos e nutrientes (75,76). Estudos semelhantes, como em África, reflectem que, de facto, o desemprego influenciou negativamente o acesso aos alimentos e, conseqüentemente, a segurança alimentar (77,78), bem como nos países asiáticos, devido ao desemprego no período da COVID-19 que afectou tanto a disponibilidade como o acesso aos alimentos (52). Da mesma forma, nos Estados Unidos, foi observada a mesma correlação das variáveis analisadas (54). No caso da América Latina, os estudos revelaram que o aumento do desemprego na pandemia derivada da COVID-19 levou a dificuldades no acesso aos alimentos e a segurança alimentar ficou comprometida (50,79). Por fim, devido às restrições impostas e à falta de transportes, os preços dos alimentos subiram, o que afetou negativamente o acesso da população aos alimentos; esta constatação coincide com outras pesquisas que estabelecem que os elevados preços dos produtos alimentares na pandemia não contribuíram favoravelmente para as famílias mais vulneráveis, reduzindo a possibilidade de as famílias consumirem nutrientes e alimentos básicos (80).

Nesta perspectiva o estudo constitui um dos pioneiros na análise das limitações que a população tinha no acesso aos alimentos. Tem duas abordagens na sua contribuição, a primeira tem a ver com a geração de conhecimento e a sua contribuição para a comunidade científica, e a segunda porque recolhe inputs para a previsão e tomada de decisão face a qualquer evento adverso idêntico possa ocorrer noutras regiões do mundo com geografias ou populações semelhantes àquelas estudadas no presente trabalho.

Conclusões

A investigação estabelece que a logística, o rendimento familiar, o desemprego, os preços dos produtos e os factores psicológicos são os aspectos que limitam o acesso aos alimentos no contexto da COVID-19 em Riobamba. Entre os factores mais relevantes está o desemprego por despedimentos ou reformas ocorridas em empresas ou encerramento de empresas familiares; a logística, como o transporte para os mercados locais ou as viagens provinciais, limitou o acesso aos alimentos; observou-se também

It was also observed that the low economic income generated in that period was not sufficient to have and access food. Another factor was psychological, that is, the fear of contagion did not allow consumers to go look for food in the marketing centers.

The limitations of the research are related to the individual analysis of each independent variable with food security, it is not incorporated due to the global treatment of the data, because the study aims to show the set of most important variables that limited food security in the midst of a pandemic, which undoubtedly offers an approximation to the problem and also offers a reading of the local context and its implications in the phenomenon of study. However, the study exposes the main factors that are related to food security in this type of health crisis. Likewise, from this research, lines of research can be created in the components of food security, such as the availability, access and consumption of food in adverse events such as COVID-19.

Authors Contributions Statement

Conceptualization, VDA-N; data curation, VDA-N, GCM-L and GMQ-F; formal analysis, VDA-N, GCM-L and GMQ-F; investigation, VDA-N, GCM-L, GMQ-F, AS, CC, HH and AR; methodology, VDA-N, GCM-L and GMQ-F; project administration, VDA-N and AR; resources, VDA-N and AR; software, VDA-N; supervision, CC and A.R.; validation, VDA-N, CC, HH and A.R.; visualization, CC, HH and AR; writing—original draft, VDA-N, GCM-L and GMQ-F; writing—review and editing, VDA-N, GCM-L, GMQ-F, AS, CC, HH and AR. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding

This work received no external funding.

Conflict of Interests

The authors declare no conflict of interest. The consulting editor involved in the authorship of this manuscript had no involvement in the review or decision process.

que o baixo rendimento económico gerado nesse período não era suficiente para ter e ter acesso aos alimentos; outro fator foi o psicológico, ou seja, o receio do contágio não permitiu que os consumidores procurassem alimentos nos centros de comercialização.

As limitações da investigação estão relacionadas com a análise individual de cada variável independente com a segurança alimentar, não sendo incorporada devido ao tratamento global dos dados, pois o estudo visa mostrar o conjunto de variáveis mais importantes que limitaram a segurança alimentar no meio de uma pandemia, o que oferece, sem dúvida, uma aproximação ao problema e oferece também uma leitura do contexto local e das suas implicações no fenómeno em estudo. No entanto, o estudo expõe os principais factores que estão relacionados com a segurança alimentar neste tipo de crise sanitária. Da mesma forma, a partir desta investigação podem ser criadas linhas de investigação nas componentes da segurança alimentar, como a disponibilidade, acesso e consumo de alimentos em eventos adversos como a COVID-19.

Declaração sobre as contribuições do autor

Concepção, VDA-N; curadoria de dados, VDA-N, GCM-L e GMQ-F; análise formal, VDA-N, GCM-L e GMQ-F; investigação, VDA-N, GCM-L, GMQ-F, AS, CC, HH e AR; metodologia, VDA-N, GCM-L e GMQ-F; administração de projetos, VDA-N e AR; recursos, VDA-N e AR; software, VDA-N; supervisão, CC e A.R.; validação, VDA-N, CC, HH e A.R.; visualização, CC, HH e AR; redação – rascunho original, VDA-N, GCM-L e GMQ-F; redação – revisão e edição, VDA-N, GCM-L, GMQ-F, AS, CC, HH e AR. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Financiamento

Este trabalho não recebeu financiamento externo.

Conflito de Interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses. O editor consultor envolvido na autoria deste manuscrito não teve qualquer envolvimento no processo de revisão ou decisão.

References / Referências

1. Kasim, C. M. (2012). Food security and nutrition in Kerala: an exploratory approach. *Journal of Rural Development*, 31, 513-534.
2. Mensah, C., & Karriem, A. (2021). Harnessing public food procurement for sustainable rural livelihoods in South Africa through the national school nutrition programme: A qualitative assessment of contributions and challenges. *Sustainability*, 13(24), 13838. doi: 10.3390/su132413838.
3. Del Castillo, S. E., Patiño, G. A., & Herrán, Ó. F. (2012). Inseguridad alimentaria: variables asociadas y elementos para la política social. *Biomedica*, 32(4), 545-556. doi: 10.7705/biomedica.v32i4.766.
4. Otekunrin, O. A., Otekunrin, O. A., Sawicka, B., & Pszczółkowski, P. (2021). Assessing food insecurity and its drivers among smallholder farming households in rural Oyo State, Nigeria: the HFIAS approach. *Agriculture*, 11(12), 1189. doi: 10.3390/agriculture11121189.
5. Barnet, O. E. (2019). Políticas de desarrollo económico local: ¿Y si repensamos lo básico?. *Terra: Revista de Desarrollo Local*, 5, 105-125. doi: 10.7203/terra.5.14807.
6. Cuenca, M. H. (2020). Food security and COVID-19 in Latin America: A challenge to overcome. *Gaceta Médica de Caracas*, 128(2S), S188-S195. doi: 10.47307/GMC.2020.128.S2.6.
7. Si, S., Cullen, J., Ahlstrom, D., & Wei, J. (2020). Business, entrepreneurship and innovation toward poverty reduction. *Entrepreneurship & Regional Development*, 32, 1-20. doi: 10.1080/08985626.2019.1640485.
8. Boliko, M. C. (2019). FAO and the situation of food security and nutrition in the world. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 65(Supplement), S4-S8. doi: 10.3177/jnsv.65.S4.
9. Cook, J. T., & Frank, D. A. (2008). Food security, poverty, and human development in the United States. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1136(1), 193-209. doi: 10.1196/annals.1425.001.
10. Bleich, E. G., Rhissa, Z., & Mack, S. (2005). The FAO special programme for food security: livestock diversification—a case study in Chad. *World's Poultry Science Journal*, 61(1), 23-30. doi: 10.1079/WPS200438.
11. Mansour, R., Liamputtong, P., & Arora, A. (2021). Food security among libyan migrants living in Australia: A qualitative study. *Sustainability*, 13(24), 13853. doi: 10.3390/su132413853.
12. Pilař, L., Stanislavská, L. K., Rojik, S., Kvasnička, R., Poláková, J., & Gresham, G. (2018). Customer experience with organic food: Global view. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 30, 918-926. doi: 10.9755/ejfa.2018.v30.i11.1856.
13. Samim, S. A., Hu, Z., Stepien, S., Amini, S. Y., Rayee, R., Niu, K., & Mgendi, G. (2021). Food insecurity and related factors among farming families in Takhar region, Afghanistan. *Sustainability*, 13(18), 10211. doi: 10.3390/su131810211.
14. Herrington, A., & Mix, T. L. (2021). Invisible and insecure in rural America: Cultivating dignity in local food security initiatives. *Sustainability*, 13(6), 3109. doi: 10.3390/su13063109.
15. FAO. Global Estrategic Framework for food security & nutrition, Roma, Italy. (2014).
16. Alvarado, R., Peñarreta, M., Armas, R., & Alvarado, R. (2017). Access to financing and regional entrepreneurship in Ecuador: an approach using spatial methods. *International Journal of Entrepreneurship*, 21(3), 1-9.
17. Fredriksson, L., Rizov, M., Davidova, S., & Bailey, A. (2021). Smallholder farms in Bulgaria and their contributions to food and social security. *Sustainability*, 13(14), 7635. doi: 10.3390/su13147635.
18. Jiang, X., Chen, Y., & Wang, J. (2021). Global food security under COVID-19: comparison and enlightenment of policy responses in different countries. *Foods*, 10(11), 2850. doi: 10.3390/foods10112850.
19. Dombrowski, R. D., Hill, A. B., Bode, B., Knoff, K. A., Dastgerdzad, H., Kulik, N., ... & Bynum, W. (2022). Assessing the influence of food insecurity and retail environments as a proxy for structural racism on the COVID-19 pandemic in an urban setting. *Nutrients*, 14(10), 2130. doi: 10.3390/nu14102130.
20. Nahid, N., Lashgarara, F., Farajolah Hosseini, S. J., Mirdamadi, S. M., & Rezaei-Moghaddam, K. (2021). Determining the resilience of rural households to food insecurity during drought conditions in Fars province, Iran. *Sustainability*, 13(15), 8384. doi: 10.3390/su13158384.
21. Charrua, A. B., Havik, P. J., Bandeira, S., Catarino, L., Ribeiro-Barros, A., Cabral, P., ... & Romeiras, M. M. (2021). Food security and nutrition in mozambique: Comparative study with bean species commercialised in informal markets. *Sustainability*, 13(16), 8839. doi: 10.3390/su13168839.
22. Kemsawasd, V., Inthachat, W., Suttisansanee, U., & Temviriyankul, P. (2022). Road to the red carpet of edible crickets through integration into the human food chain with biofunctions and sustainability: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1801. doi: 10.3390/ijms23031801.
23. Machado-Duque, M. E., & Calderón-Flórez, V. (2014). Determinantes socioeconómicos, inseguridad alimentaria y desnutrición crónica en población desplazada de primera infancia, Pereira, Colombia. *Revista médica de Risaralda*, 20(1), 3-8.
24. Eche, D. (2018). Análisis de la seguridad alimentaria en la agricultura familiar del norte del Ecuador. *Agroalimentaria*, 24(47), 91-112.
25. Wangu, J. (2021). The need for a food systems approach in smallholder food and nutrition security initiatives: Lessons from inclusive agribusiness in smallholder communities. *Foods*, 10(8), 1785. doi: 10.3390/foods10081785.
26. García-Díez, J., Gonçalves, C., Grispoldi, L., Cenci-Goga, B., & Saraiva, C. (2021). Determining food stability to achieve food security. *Sustainability*, 13(13), 7222. doi: 10.3390/su13137222.
27. Rabbi, M. F., Oláh, J., Popp, J., Máté, D., & Kovács, S. (2021). Food security and the COVID-19 crisis from a consumer buying behaviour perspective—the case of Bangladesh. *Foods*, 10(12), 3073. doi: 10.3390/foods10123073.
28. Li, S., Kallas, Z., Rahmani, D., & Gil, J. M. (2021). Trends in food preferences and sustainable behavior during the COVID-19 lockdown: Evidence from Spanish consumers. *Foods*, 10(8), 1898. doi: 10.3390/foods10081898.
29. Jayasinghe, S., Flies, E. J., Soward, R., Kendal, D., Kilpatrick, M., Cleland, V., ... & Hills, A. P. (2022). Physical activity and food environments in and around schools: a case study in regional North-West Tasmania. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(10), 6238. doi: 10.3390/ijerph19106238.
30. FAO. El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2019. Roma, Italy. (2019).
31. Giunta, I. (2018). Soberanía alimentaria entre derechos del buen vivir y políticas agrarias en Ecuador. *Theomai*, 38, 109-122.

32. Andrade, C., & Ayaviri, D. (2017). Environmental issues and food security in Guano, Ecuador. *Informacion Tecnologica*, 28(5), 233-242. doi: 10.4067/s0718-07642017000500022.
33. McCarthy, A. C., Belarmino, E. H., Bertmann, F., & Niles, M. T. (2022). Food security impacts of the COVID-19 pandemic: longitudinal evidence from a cohort of adults in Vermont during the first year. *Nutrients*, 14(7), 1358. doi: 10.3390/nu14071358.
34. Sassi, M. (2021). Coping strategies of food insecure households in conflict areas: the case of South Sudan. *Sustainability*, 13(15), 8615. doi: 10.3390/su13158615.
35. Wang, J., Ding, X., Gao, H., & Fan, S. (2022). Reshaping food policy and governance to incentivize and empower disadvantaged groups for improving nutrition. *Nutrients*, 14(3), 648. doi: 10.3390/nu14030648.
36. Haq, S. U., Shahbaz, P., Abbas, A., Batool, Z., Alotaibi, B. A., & Traore, A. (2022). Tackling food and nutrition insecurity among rural inhabitants: Role of household-level strategies with a focus on value addition, diversification and female participation. *Land*, 11(2), 254. doi: 10.3390/land11020254.
37. Singleton, C. R., Fabusoro, O., Teran-Garcia, M., & Lara-Cinisomo, S. (2022). Change in employment status due to the COVID-19 pandemic, SNAP participation, and household food insecurity among Black and Latino adults in Illinois. *Nutrients*, 14(8), 1581. doi: 10.3390/nu14081581.
38. Martini, S., Magistrelli, L., Vignaroli, F., Colombatto, F., Comi, C., & Cosentino, M. (2022). The effects of COVID-19-related restrictions on Parkinson's disease patients in Italy: results of a structured survey. *Journal of Clinical Medicine*, 11(11), 3007. doi: 10.3390/jcm11113007.
39. Mohamed, E. M. A., Abdallah, S. M. A., Ahmadi, A., & Lucero-Priso III, D. E. (2021). Food security and COVID-19 in Africa: implications and recommendations. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 104(5), 1613. doi: 10.4269/ajtmh.20-1590.
40. Din, A. U., Han, H., Ariza-Montes, A., Vega-Muñoz, A., Raposo, A., & Mohapatra, S. (2022). The impact of COVID-19 on the food supply chain and the role of e-commerce for food purchasing. *Sustainability*, 14(5), 3074. doi: 10.3390/su14053074.
41. Rozaki, Z. (2020). COVID-19, agriculture, and food security in Indonesia. *Reviews in Agricultural Science*, 8, 243-260. doi: 10.7831/ras.8.0_243.
42. Poudel, P. B., Poudel, M. R., Gautam, A., Phuyal, S., Tiwari, C. K., Bashyal, N., & Bashyal, S. (2020). COVID-19 and its global impact on food and agriculture. *Journal of Biology and Today's World*, 9(5), 221-225.
43. Laborde, D., Martin, W., & Vos, R. (2021). Impacts of COVID-19 on global poverty, food security, and diets: Insights from global model scenario analysis. *Agricultural Economics*, 52(3), 375-390. doi: 10.1111/agec.12624.
44. Fernández, C. L. (2020). La pandemia del Covid-19: los sistemas y la seguridad alimentaria en América Latina/Covid-19 pandemic: systems and food security in Latin America. *Economíaunam*, 17(51), 168-179.
45. Tian, X., Zhou, Y., & Wang, H. (2022). The impact of COVID-19 on food consumption and dietary quality of rural households in China. *Foods*, 11(4), 510. doi: 10.3390/foods11040510.
46. Boyacı-Gündüz, C. P., Ibrahim, S. A., Wei, O. C., & Galanakis, C. M. (2021). Transformation of the food sector: Security and resilience during the COVID-19 pandemic. *Foods*, 10(3), 497. doi: 10.3390/foods10030497.
47. Lugo-Morin, D. R. (2020). Global food security in a pandemic: The case of the new coronavirus (COVID-19). *World*, 1(2), 13. doi: 10.3390/world1020013.
48. Smith, M. D., & Wesselbaum, D. (2020). COVID-19, food insecurity, and migration. *The Journal of Nutrition*, 150(11), 2855-2858. doi: 10.1093/jn/nxaa270.
49. Flores-Ramírez, R., Berumen-Rodríguez, A. A., Martínez-Castillo, M. A., Alcántara-Quintana, L. E., Díaz-Barriga, F., & Díaz de León-Martínez, L. (2021). A review of environmental risks and vulnerability factors of indigenous populations from Latin America and the Caribbean in the face of the COVID-19. *Global Public Health*, 16(7), 975-999. <https://doi.org/10.1080/17441692.2021.1923777>
50. Hernández-Vásquez, A., Visconti-Lopez, F. J., Chacón-Torrico, H., & Azañedo, D. (2023). COVID-19 and food insecurity in Latin America and the Caribbean. *Journal of Hunger & Environmental Nutrition*, 18(3), 372-379. doi: 10.1080/19320248.2022.2086023.
51. de Haro Mota, R., Ortiz-Jiménez, M. A., & Blas-Yañez, S. (2024). Factorial effects contributing to food security in Mexico during COVID-19 context. *Journal of Agriculture and Food Research*, 15, 100999. doi: 10.1016/j.jafr.2024.100999.
52. Hernández-Vásquez, A., Visconti-Lopez, F. J., & Vargas-Fernández, R. (2022). Factors associated with food insecurity in Latin America and the Caribbean countries: a cross-sectional analysis of 13 countries. *Nutrients*, 14(15), 3190. doi: 10.3390/nu14153190.
53. Ayala Durán, C. (2023). Effects of the COVID-19 pandemic on food insecurity in El Salvador during 2020. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 46, e209. doi: 10.26633/RPSP.2022.209.
54. Benites-Zapata, V. A., Urrunaga-Pastor, D., Solorzano-Vargas, M. L., Herrera-Añazco, P., Uyen-Cateriano, A., Bendezu-Quispe, G., ... & Hernandez, A. V. (2021). Prevalence and factors associated with food insecurity in Latin America and the Caribbean during the first wave of the COVID-19 pandemic. *Heliyon*, 7(10). doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e08091.
55. Bautista-Arredondo, L. F., Muñoz-Rocha, T. V., Figueroa, J. L., Téllez-Rojo, M. M., Torres-Olascoaga, L. A., Cantoral, A., ... & Lamadrid-Figueroa, H. (2024). A surge in food insecurity during the COVID-19 pandemic in a cohort in Mexico City. *PLOS ONE*, 19(5), e0297694. doi: 10.1371/journal.pone.0297694.
56. Alvarez-Risco, A., Mlodzianowska, S., García-Ibarra, V., Rosen, M. A., & Del-Aguila-Arcenales, S. (2021). Factors affecting green entrepreneurship intentions in business university students in COVID-19 pandemic times: Case of Ecuador. *Sustainability*, 13(11), 6447. doi: 10.3390/su13116447.
57. INEC, Encuesta Nacional de Desnutrición Infantil (ENDI), Quito (2021).
58. Cordero-Ahiman, O. V., Vanegas, J. L., Fernández-Lucero, C. A., Torres-Torres, D. F., Ayaviri-Nina, V. D., & Quispe-Fernández, G. M. (2022). Responsible marketing in the traffic light labeling of food products in Ecuador: perceptions of Cuenca consumers. *Sustainability*, 14(6), 3247. doi: 10.3390/su14063247.
59. Ayaviri-Nina, V. D., Quispe-Fernández, G. M., Vanegas, J. L., Ortega-Mejía, V., & Cordero-Ahiman, O. V. (2022). Importance of purchasing power and education in the food security of families in rural areas—case study: Chambo, Ecuador. *Sustainability*, 14(10), 6068. doi: 10.3390/su14106068.
60. Jha, P. K., Middendorf, G., Faye, A., Middendorf, B. J., & Prasad, P. V. (2023). Lives and livelihoods in smallholder farming systems of Senegal: impacts, adaptation, and resilience to COVID-19. *Land*, 12(1), 178. doi: 10.3390/land12010178.

61. Thomas, M., Eveleigh, E., Vural, Z., Rose, P., Avery, A., Coneyworth, L., & Welham, S. (2022). The Impact of the COVID-19 Pandemic on the Food Security of UK Adults Aged 20–65 Years (COVID-19 Food Security and Dietary Assessment Study). *Nutrients*, *14*(23), 5078. doi: 10.3390/nu14235078.
62. Liang, Y., Zhong, T., & Crush, J. (2022). Boon or Bane? Urban Food Security and Online Food Purchasing during the COVID-19 Epidemic in Nanjing, China. *Land*, *11*(6), 945. doi: 10.3390/land11060945.
63. Huang, H. (2022). Riders on the storm: Amplified platform precarity and the impact of COVID-19 on online food-delivery drivers in China. *Journal of Contemporary China*, *31*(135), 351–365.
64. Hawkins, M., Clermont, M., Wells, D., Alston, M., McClave, R., & Snelling, A. (2022). Food Security Challenges and Resilience during the COVID-19 Pandemic: Corner Store Communities in Washington, DC. *Nutrients*, *14*(15), 3028. doi: 10.3390/nu14153028.
65. Dasgupta, S., & Robinson, E. J. (2021). Food insecurity, safety nets, and coping strategies during the COVID-19 pandemic: multi-country evidence from Sub-Saharan Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(19), 9997. doi: 10.3390/ijerph18199997.
66. Sharp, E. L., Haszard, J., Egli, V., Roy, R., Te Morenga, L., Teunissen, L., ... & Gerritsen, S. (2021). Less food wasted? Changes to New Zealanders' household food waste and related behaviours due to the 2020 COVID-19 lockdown. *Sustainability*, *13*(18), 10006. doi: 10.3390/su131810006.
67. Zhang, C., Yang, Y., Feng, Z., Xiao, C., Liu, Y., Song, X., & Lang, T. (2022). Cold chain food and COVID-19 transmission risk: from the perspective of consumption and trade. *Foods*, *11*(7), 908. doi: 10.3390/foods11070908.
68. Consavage Stanley, K., Harrigan, P. B., Serrano, E. L., & Kraak, V. I. (2021). Applying a multi-dimensional digital food and nutrition literacy model to inform research and policies to enable adults in the US Supplemental Nutrition Assistance Program to make healthy purchases in the online food retail ecosystem. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(16), 8335. doi: 10.3390/ijerph18168335.
69. Hirvonen, K., De Brauw, A., & Abate, G. T. (2021). Food consumption and food security during the COVID-19 pandemic in Addis Ababa. *American Journal of Agricultural Economics*, *103*(3), 772–789. doi: 10.1111/ajae.12206.
70. Myers, C. A., Beyl, R. A., Martin, C. K., Broyles, S. T., & Katzmarzyk, P. T. (2020). Psychological mechanisms associated with food security status and BMI in adults: a mixed methods study. *Public Health Nutrition*, *23*(14), 2501–2511. doi: 10.1017/S1368980020000889.
71. Nettle, D., Andrews, C., & Bateson, M. (2017). Food insecurity as a driver of obesity in humans: The insurance hypothesis. *Behavioral and Brain Sciences*, *40*, e105. doi: 10.1017/S0140525X16000947.
72. Lujabe, B., Pretorius, B., Goliath, V., & Sibanda, W. (2022). Exploring the Food (In) Security Status of Suburban Households and Its Determinants during COVID-19. *Sustainability*, *14*(7), 3918. doi: 10.3390/su14073918.
73. Trollman, H., Jagtap, S., Garcia-Garcia, G., Harastani, R., Colwill, J., & Trollman, F. (2021). COVID-19 demand-induced scarcity effects on nutrition and environment: Investigating mitigation strategies for eggs and wheat flour in the United Kingdom. *Sustainable Production and Consumption*, *27*, 1255–1272. doi: 10.1016/j.spc.2021.03.001.
74. Vatta, K., Bhogal, S., Green, A. S., Sharma, H., Petrie, C. A., & Dixit, S. (2022). COVID-19 pandemic-induced disruptions and implications for national food security and farm incomes: farm-level evidence from Indian Punjab. *Sustainability*, *14*(8), 4452. doi: 10.3390/su14084452.
75. Dodd, N. M., & Nyabvudzi, T. G. (2014). Unemployment, living wages and food security in Alice, Eastern Cape, South Africa. *Journal of Human Ecology*, *47*(2), 117–123. doi: 10.1080/09709274.2014.11906744.
76. Endris Mekonnen, E., & Kassegn Amede, A. (2022). Food insecurity and unemployment crisis under COVID-19: Evidence from sub-Saharan Africa. *Cogent Social Sciences*, *8*(1), 2045721. doi: 10.1080/23311886.2022.2045721.
77. Padillah, R., & Saputra, R. (2024). Youth unemployment phenomenon in Indonesia: a growing threat to food security and social stability. *Journal of Public Health*, *46*(4), e707–e708. doi: 10.1093/pubmed/fdae204.
78. Raifman, J., Bor, J., & Venkataramani, A. (2021). Association between receipt of unemployment insurance and food insecurity among people who lost employment during the COVID-19 pandemic in the United States. *JAMA Network Open*, *4*(1), e2035884–e2035884. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.35884.
79. Mishra, K., & Rampal, J. (2020). The COVID-19 pandemic and food insecurity: A viewpoint on India. *World Development*, *135*, 105068. doi: 10.1016/j.worlddev.2020.105068.
80. Ruiz, Y. D., Nariño, O. S., Almonte, J. M. J., & Domínguez, J. A. M. (2022). Household Food Security as a Complex System—Contributions to the Social Sciences from the Cuban Perspective during a Pandemic. *Sustainability*, *14*(18), 11783. doi: 10.3390/su141811.

Neocarya macrophylla (Chrysobalanaceae): Review of taxonomy, ethnobotany, phytochemistry and biological activities

Neocarya macrophylla (Chrysobalanaceae): Revisão sobre taxonomia, etnobotânica, fitoquímica e actividades biológicas

Amina Jega Yusuf¹ , Musa Ismail Abdullahi¹ , Abubakar Alhaji Muhammad² , Kasimu Ghandi Ibrahim^{3,4} , Hajara Adamu Wasagu⁵ , Florencia Z. Bräuning⁶ , Gabrielle Bangay^{6,7} , & Patrícia Rijo^{6,8}

Keywords: *Neocarya macrophylla*, analgesic, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant

Palavras-chave: *Neocarya macrophylla*, analgésico, anti-inflamatório, antimicrobiano, antioxidante

To Cite:

Yusuf, A. J., et al. (2024) *Neocarya macrophylla* (Chrysobalanaceae): Review of taxonomy, ethnobotany, phytochemistry and biological activities. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 21(1), 1-22.

[10.19277/bbr.21.1.331](https://doi.org/10.19277/bbr.21.1.331)

1 - Department of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Usmanu Danfodiyo University, Sokoto, Nigeria

2 - Department of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria

3 - Department of Physiology, Faculty of Basic Medical Sciences, College of Health Sciences, Usmanu Danfodiyo University, Sokoto, Nigeria

4 - Department of Basic Medical and Dental Sciences, Faculty of Dentistry, Zarqa University, Jordan

5 - Department of Biology, Shehu Shagari College of Education, Sokoto, Nigeria

6 - CBIOS - Research Center for Biosciences & Health Technologies, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisbon, Portugal

7 - Universidad de Alcalá de Henares. Facultad de Farmacia, Departamento de Ciencias Biomédicas, Alcalá de Henares, Madrid, Spain

8 - Research Institute for Medicines (iMED, Ulisboa), Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

Correspondence to / Correspondência a:
 amina.yusuf@udusok.edu.ng;
 patricia.rijo@ulusofona.pt

Received / Recebido: 14/12/2023
 Accepted / Aceite: 29/03/2024

Abstract

The *Neocarya macrophylla* plant is used traditionally for food, medicinal, spiritual and industrial purposes. It is also used as a soap, dye, glue, fodder, termite repellent, firewood and for structural materials. Few studies on the physicochemical, nutritional content, phytochemical and pharmacological activities have validated the benefits of *N. macrophylla* to humanity as a food, in cosmetics or pharmaceutical products. The major bioactive constituents identified in the plant so far are steroids and flavonoids, such as, stigmaterol, quercetin, catechin and its related glycosides, as well as glucosamines. Extracts of the plant have shown good antivenom, antimicrobial, analgesic, anti-inflammatory, antimycobacterial, anthelmintic and antioxidant activities. Acute toxicity studies have confirmed the plant to be toxic. More studies on the plant are required in order to exploit other biological activities as claimed by traditional healers and also to isolate more bioactive compounds. In addition, the safety and tolerability assessment of *N. macrophylla* should be undertaken due to its widespread usage.

Resumo

Neocarya macrophylla é usada tradicionalmente para fins alimentares, medicinais, espirituais e industriais. Também é utilizada como sabão, corante, cola, forragem, repelente de térmitas, lenha e como material estrutural. Existem poucos estudos sobre o conteúdo físico-químico, nutricional, fitoquímico e atividades farmacológicas que validem os benefícios de *N. macrophylla* para a humanidade como alimento, em cosméticos e produtos farmacêuticos. Os principais constituintes bioativos identificados na planta até agora são esteróides e flavonóides (tais como estigmaterol, quercetina, catequina e os seus glicosídeos relacionados, assim como glucosaminas). Os extratos das plantas mostraram boas atividades antiveneno, antimicrobiana, analgésica, anti-inflamatória, antimicobacteriana, anti-helmíntica e antioxidante. Estudos de toxicidade aguda confirmaram que a planta é tóxica. São necessários mais estudos sobre a planta para explorar outras atividades biológicas, alegadas por curandeiros tradicionais, e também para isolar mais compostos bioativos. Além disto, a avaliação da segurança e da tolerabilidade de *N. macrophylla* deve ser efetuada devido à sua utilização generalizada.

Introduction

Medicinal plants have been a major source of therapeutic agents since time immemorial (1). Ethnobotany is a discipline which studies the interrelationship between people and plants, historically and cross-culturally, particularly focusing on the role of plants in human culture and practices, how humans have used and modified plants and how they represent them in their systems of knowledge (2). Thus, the documentation of plant use related to health, mostly about medicinal plants, and for food, are predominant in ethnobotanical research (2).

Neocarya macrophylla (Sabine) Prance ex F. White (formerly *Parinari macrophylla* Sabine) is a West African species commonly known as gingerbread plum, which belongs to the Chrysobalanaceae family (3). The plant has found a variety of applications as a food, medicine, for spiritual and industrial uses, as well as a dye, glue, fodder, soap, termite repellent (in Gambia), firewood and for structural materials (4,5). An extensive literature search on *N. macrophylla* revealed that there was no critical review on the therapeutic applications of the plant; hence, in this article, we report herein, the ethnobotany, taxonomical, phytochemical and pharmacological activities of *N. macrophylla* as a food, cosmetic and pharmaceutical product.

Materials and Methods

Scientific data bases, such as PubMed, Science Direct, Google Scholar, Sci-finder, ResearchGate, academia.edu were searched for relevant literature using the following keywords: "*Neocarya macrophylla*" OR "*Parinari macrophylla*" AND "research work done" OR "isolation of compounds" AND "pharmacological studies". Relevant articles were selected and ChemDraw version 12 was used to draw the chemical structures.

Abbreviations: *N. macrophylla* – *Neocarya macrophylla*; FT-IR – Fourier Transform Infrared; MIC – Minimum Inhibitory Concentration; MBC – Minimum Bactericidal Concentration; MFC – Minimum Fungicidal Concentration; PLA2 - Phospholipase A2; *N. nigricollis* – *Naja nigricollis*; IC50 - Half-maximal inhibitory concentration; LD50 - Median lethal dose; MRSA - Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*; VRE - Vancomycin-Resistant *enterococci*

Introdução

As plantas medicinais têm sido uma fonte importante de agentes terapêuticos desde os primórdios (1). A etnobotânica é uma disciplina que estuda a inter-relação entre as pessoas e estas plantas, histórica e transculturalmente, em particular, o papel das plantas na cultura e nas práticas humanas, a forma como os seres humanos utilizaram e modificaram as plantas e como as representam nos seus sistemas de conhecimento (2). Portanto, a documentação de usos de plantas relacionados com a saúde, principalmente das plantas medicinais e das que consumimos como alimento, são predominantes na investigação etnobotânica (2).

Neocarya macrophylla (Sabine) Prance ex F. White (anteriormente *Parinari macrophylla* Sabine) é uma espécie da África Ocidental vulgarmente conhecida como ameixa de gengibre que pertence à família Chrysobalanaceae (3). A planta é usada numa variedade de aplicações, tais como alimento, medicamento, com fins espirituais e industriais, assim como sabão, corante, cola, forragem, repelente de térmitas (na Gâmbia), lenha e materiais estruturais (4,5). Uma pesquisa bibliográfica extensa sobre a *N. macrophylla* revelou que não existe uma revisão crítica sobre as aplicações terapêuticas da planta; por isso, neste artigo, reportamos as atividades etnobotânicas, taxonómicas, fitoquímicas e farmacológicas de *N. macrophylla* como alimento, nos cosméticos e produtos farmacêuticos.

Material e Métodos

Bases de dados científicas, como PubMed, Science Direct, Google Scholar, Sci-finder, ResearchGate, e academia.edu, foram utilizadas para as pesquisas de literatura relevante. As palavras-chave utilizadas na pesquisa foram: "*Neocarya macrophylla*" OU "*Parinari macrophylla*" E "research work done" OU "isolation of compounds" E "pharmacological studies". Artigos relevantes foram selecionados e ChemDraw versão 12 foi utilizado para desenhar as estruturas químicas.

Abreviaturas: *N. macrophylla* – *Neocarya macrophylla*; FT-IR – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier; MIC – Concentração Mínima Inibitória; MBC - Concentração Bactericida Mínima; MFC - Concentração Fungicida Mínima; PLA2 - Fosfolipase A2; *N. nigricollis* – *Naja nigricollis*; IC50 - Concentração Inibitória Média; LD50 - Dose Letal Mediana; MRSA - *Staphylococcus aureus* resistente à metilina; VRE - *enterococci* resistente à vancomicina

Results and Discussion

Botanical description

Neocarya Prance ex F. White is a genus in the Chrysobalanaceae family, as described by Prance ex White in 1976 and contains the species *N. macrophylla* (Figure 1) native only to western and central Africa, from Senegal to Nigeria and South Sudan (6-7). The plant family is composed of 17 genera and about 525 species that are mainly woody plants, shrubs and trees, mostly found in tropical and subtropical regions (8). The wood has little advantage over other types of wood due to high silica content, while most of the species have edible fruits (9,10). Flowers are seen almost all year round, but most commonly in the second part of the dry season (4).

Scientific classification

Kingdom: Plantae
Phylum: Magnoliophyta
Class: Angiospermae
Category: Fabids
Order: Malpighiales
Family: Chrysobalanaceae
Genus: *Neocarya*
Species: *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F. White

Common names

English: Gingerbread plum or Neou oil tree
Hausa: Gawasa or Farar rura
Fulfulde: Naawdi
Nupe: Kobenci



Resultados e Discussão

Descrição botânica

Neocarya Prance ex F. White é um gênero da família Chrysobalanaceae, descrito por Prance ex White em 1976, e contém apenas a espécie *N. macrophylla* (Figura 1) nativa da África ocidental e central, do Senegal à Nigéria e ao Sudão do Sul (6-7). A família das plantas é composta por 17 gêneros e cerca de 525 espécies que são principalmente plantas lenhosas, arbustos e árvores que se encontram sobretudo em regiões tropicais e subtropicais (8). A sua madeira tem poucas vantagens em relação a outros tipos de madeira devido ao elevado teor de sílica, enquanto que a maioria das espécies tem frutos comestíveis (9,10). São observadas flores durante quase todo o ano, mas mais frequentemente na segunda parte da estação seca (4).

Classificação científica

Reino: Plantae
Filo: Magnoliophyta
Classe: Angiospermae
Categoria: Fabáceas
Ordem: Malpighiales
Família: Chrysobalanaceae
Gênero: *Neocarya*
Espécie: *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F. White

Nomes comuns

Português: Ameixa de gengibre ou árvore de óleo de Neou
Hausa: Gawasa ou Farar rura
Fulfulde: Naawdi
Nupe: Kobenci

Figure 1 - *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F.White (Chrysobalanaceae)

Source: JIRCAS photo by Rellchi Miura

Figura 1 - *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F.White (Chrysobalanaceae)

Fonte: Foto do JIRCAS por Rellchi Miura

Morphology

N. macrophylla is a shrub or small tree that grows to 6 – 10 m high. It usually has a bole with short branches that are twisted with an open crown (4). The fruit (Figure 2) is an ellipsoid drupe, glabrous, yellowish-brown with grey warts on the surface. It is 4 – 5 cm long and 2.5 – 3.5 cm across, with a hard stone embedded in a thick pulp. The bark is fissured or rough and appears thick and brittle with blackish and red slash. The stems are densely pubescent russet-brown in colour. The plant has stipules which are linear in the leaf axils.

Morfologia

N. macrophylla é um arbusto ou uma pequena árvore que cresce até 6 - 10 m de altura. Tem geralmente um tronco com ramos curtos e retorcidos com uma coroa aberta (4). O fruto (Figura 2) é uma drupa elipsoide, glabra, castanho-amarelada com verrugas cinzentas na superfície e tem 4 - 5 cm de comprimento e 2,5 - 3,5 cm de diâmetro com um caroço duro envolvido por uma polpa espessa. A casca é fissurada ou rugosa e tem um aspecto espesso e quebradiço, com barras pretas e vermelhas. Os caules são densamente pubescentes de cor castanho-avermelhada. A planta tem estípulas que são lineares nas axilas foliares.



Figure 2 - Fruit (a) and seeds (b) of *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F.White (Chrysobalanaceae);
Source: JIRCAS photo by Rellchi Miura

Figura 2 - Fruto (a) e sementes (b) de *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F.White (Chrysobalanaceae);
Fonte: Foto do JIRCAS por Rellchi Miura



Figure 3 - Leaves of *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F.White (Chrysobalanaceae);
Source: JIRCAS photo by Rellchi Miura

Figura 3 - Folhas de *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F.White (Chrysobalanaceae);
Fonte: Foto do JIRCAS por Rellchi Miura

The leaves (Figure 3) are alternate, ovate or elliptic and they are 10 – 25 cm long and 5 – 15 cm across, coriaceous and downy beneath. They have a blade with a rounded and sometimes acuminate apex and cordate or rounded base (11). *N. macrophylla* nerves are pinnate, midrib brown and downy on both surfaces, with 13 – 20 pairs of prominent lateral nerves fusing near the apex. The petiole is thick and 3 – 7 mm long, brown, tomentose with two small glands at the top up to 30 cm long. Flowers are tomentose except for the five white to pink petals that are 12 – 20 mm in diameter (4, 11).

Habitat and Distribution

N. macrophylla grows in fringing forests and forest edges in the Sudanese and Guinean lowlands on sandy soils. The trees also grow in arid and semiarid regions of the western part of Africa and Central America, particularly Panama (3). The plant is widely distributed along coastal savannahs from Senegal to Liberia, woody savannahs of southern Mali, Niger and northern Nigeria (3).

Traditional uses of *N. macrophylla*

Use as food

The fruits and the kernels inside the seeds of *N. macrophylla* are eaten fresh or boiled with cereal. A tangy tasting gruel is made from the fruits by pounding it in water to form a colourful red liquid, which can be thickened with flour (either from maize or cassava). The gingerbread nuts are usually roasted and eaten like cashews or almonds. The nuts are also consumed as snacks or mixed into dishes and sometimes are pressed to obtain cooking oil (12, 13). The fruits are used to prepare fragrant syrups that are used to make strong fruit juices (3). In Sierra-Leone, Senegal and northern Nigeria, the fruits are a popular treat among the people, where they are sold in the local markets. The flesh of the fruits is soft and yellowish when fresh with distinct and peculiar flavour while the rind from the fresh fruits is used to impart a pleasant scent in ointments (5).

As folhas (Figura 3) são alternadas, ovadas ou elípticas, com 10 - 25 cm de comprimento e 5 - 15 cm de diâmetro, coriáceas e aveludadas por baixo. Existe uma lâmina com um ápice redondo e por vezes acuminado e uma base cordada ou arredondada (11). As nervuras da *N. macrophylla* são pinadas, a nervura central é castanha e aveludada em ambas as superfícies, com 13 a 20 pares de nervuras laterais proeminentes que se fundem perto do ápice. O pecíolo é espesso e tem 3 - 7 mm de comprimento, castanho, tomentoso com duas pequenas glândulas no topo até 30 cm de comprimento. As flores são tomentosas, exceto cinco pétalas brancas cor-de-rosa que têm 12 - 20 mm de diâmetro (4, 11).

Habitat e distribuição

N. macrophylla cresce em florestas marginais e periferia de florestas nas terras baixas do Sudão e da Guiné em solos arenosos. As árvores também crescem em regiões áridas e semiáridas da parte ocidental de África e da América Central, particularmente no Panamá (3). A planta é amplamente distribuída ao longo das savanas costeiras do Senegal à Libéria, savanas lenhosas do sul do Mali, Níger e norte da Nigéria (3).

Usos tradicionais da *N. macrophylla*

Uso como alimento

Os frutos e o miolo das sementes de *N. macrophylla* são consumidos frescos ou cozidos com cereais. Com os frutos faz-se uma papa de sabor picante, esmagando-os em água para formar um líquido vermelho colorido que pode ser engrossado com farinha (de milho ou de mandioca). As ameixas de gengibre são geralmente torradas e comidas como castanhas de cajú ou amêndoas. Também são consumidas como petiscos ou misturadas em pratos e, por vezes, algumas são prensadas para obter óleo de cozinha (12, 13). Os frutos são utilizados para preparar xaropes perfumados que por sua vez são utilizados para fazer sumos de fruta fortes (3). Na Serra Leoa, no Senegal e no norte da Nigéria, os frutos são uma iguaria popular entre o povo, onde são vendidos nos mercados locais. A polpa dos frutos é macia e amarelada quando fresca, com um sabor distinto e peculiar, enquanto que a casca dos frutos frescos é utilizada para conferir um aroma agradável à pomadas (5).

Use as medicine

N. macrophylla is used extensively in the Northern parts of Nigeria in ethno-medicine to treat numerous diseases such as asthma, skin infections, wounds, dysentery, inflammations, pulmonary troubles, ear and eye infections (5, 14). The stem bark is used to treat conjunctivitis, pain, tooth decay, breathing disorders (4), cancer and snake bites (13). The decoctions of the leaves and bark are used as mouth wash, for internal troubles and for inflamed eyes (15). The leaves are also chewed and applied topically for the relief of pain (3, 13). In Senegal, branches of gingerbread plum are burnt and the smoke is inhaled as a remedy for snakebite (16). The roots are used as antivenom, haemostatic agents and in the treatment of circumcision and wounds (4). In Nigerian traditional medicine, the fruit is used to treat diarrhoea while the seeds are used as purgative and antihelminthic agents (4, 17).

Other uses

The fruits of *N. macrophylla* have numerous magico-religious uses (talismans, spells, sacerdotal ornaments) and the seeds are used as ointments (oils), soap and as vermifuge sometimes planted, left to grow or favoured in fields. *N. macrophylla* roots are also used for protection against curses and spirits. The hard brown timber from the plant is used for building construction, pirogues, firewood and charcoal (4). The villagers use the tree as dye, glue, fodder, soap, termite repellent (in Gambia), firewood, and structural materials (5). The seed oil of gingerbread plum can be used for the production of soap (18).

Phytochemistry

Physicochemical, nutritional and elemental contents

The physicochemical, nutritional and elemental contents of *N. macrophylla* from different locations have been adequately documented. Recent studies indicated that the refined gingerbread plum kernel oil from Niger and Guinea contained free fatty acid (0.18 and 0.20 %), acid value (0.35 and 0.39 mg KOH g⁻¹), peroxide value (34.65 and 48.87 mg O₂.kg⁻¹), iodine value (31.08 and 34.59 g I₂.100 g⁻¹) and saponification value (157.18 and 168.48 mg KOH g⁻¹) (19); the oil contained α -tocopherol (88.39 and 54.29 %), β -tocopherol (3.17 and 34.49 %) and δ -tocopherol (8.44 and 11.22 %) (19). *N. macrophylla* seed cake has been reported to have moisture content (12.32 %), ash content (6.53 %), carbohydrate content (13.19 %),

Uso como medicamento

N. macrophylla é usada extensivamente na parte norte da Nigéria na etnomedicina para tratar numerosas doenças como asma, infecções cutâneas, feridas, disenteria, inflamações, problemas pulmonares, infecções dos ouvidos e dos olhos (5, 14). A casca do caule é utilizada para tratar conjuntivite, dores, cáries dentárias, perturbações respiratórias (4), cancro e mordeduras de cobra (13). As decocções das folhas e da casca são utilizadas para lavar a boca, para tratar problemas internos e olhos inflamados (15). As folhas também são mastigadas e aplicadas topicamente para o alívio da dor (3, 13). No Senegal, os ramos da ameixa de gengibre são queimados e o fumo é inalado como remédio para a mordedura de cobra (16). As raízes são utilizadas como antiveneno, agentes hemostáticos e no tratamento da circuncisão e de feridas (4). Na medicina tradicional nigeriana, o fruto é utilizado para o tratamento de diarreia, enquanto que as sementes são utilizadas como agentes purgativos e anti-helmínticos (4, 17).

Outros usos

Os frutos de *N. macrophylla* têm numerosas utilizações mágico-religiosas (talismãs, feitiços, ornamentos sacerdotais) e as sementes são utilizadas como pomadas (óleos), sabão e como vermífugo, por vezes plantadas, deixadas a crescer ou favorecidas nos campos. As raízes de *N. macrophylla* são também utilizadas para protecção contra maldições e espíritos. A madeira dura e castanha da planta é utilizada para a construção de edifícios, pirogas, como lenha e carvão (4). Os habitantes das aldeias utilizam a árvore como corante, cola, forragem, sabão, repelente de térmitas (na Gâmbia), lenha e materiais estruturais (5). O óleo de sementes de ameixa de gengibre pode ser utilizado para a produção de sabão (18).

Fitoquímica

Conteúdo físico-químico, nutricional e elementar

Os conteúdos físico-químicos, nutricionais e elementares da *N. macrophylla* de diferentes locais tem sido adequadamente documentados. Estudos recentes indicaram que o óleo de ameixa de gengibre refinado do Níger e da Guiné continha ácidos gordos livres (0,18 e 0,20 %), índice de acidez (0,35 e 0,39 mgKOH g⁻¹), índice de peróxido (34,65 e 48,87 mg O₂.kg⁻¹), índice de iodo (31.08 e 34,59 g I₂.100 g⁻¹) e índice de saponificação (157,18 e 168,48 mg KOH g⁻¹) (19); o óleo contém α -tocoferol (88,39 e 54,29

crude protein (56.04), crude fat (4.51 %), crude fibre (7.41 %), dry matter (87.68 %) and calorific energy value of 317.48 kcal/100 g (20).

The gingerbread plum seed flour and defatted gingerbread plum seed flour had moisture (10.57 and 10.00 %), ash (4.43 and 6.43 %), carbohydrates (8.64 and 12.10 %), crude proteins (20.27 and 61.71 %), fat (47.28 and 2.14 %) and crude fibre of 8.70 and 7.37 %, respectively. The flour also contained oleic (47.15 %), linoleic (19.10 %) and arachidonic (17.64 %) acids (3).

A study confirmed that unrefined gingerbread plum kernel from Niger and Guinea has oil content (56.15 and 60.60 %), iodine value (34.90 and 39.12 g I₂.100 g⁻¹), saponification value (153.34 and 162.69 mg KOH g⁻¹), oleic acid (0.33 and 0.34 %) and peroxide value (41.28 and 54.06 mg O₂.kg⁻¹), respectively (21).

Diaby et al. (22) reported that gingerbread plum kernels paste from Niger and Guinea contained protein (18.41 and 19.56 %), ash (2.41 and 2.41 %), fat (56.18 and 60.60 %), moisture (2.82 and 3.17 %) and carbohydrate contents of 20.18 and 14.16 %, respectively, while the flour from the two locations contained protein (47.14 and 53.71 %), ash (6.25 and 6.59 %), fat (10.54 and 11.36 %), moisture (11.94 and 10.44 %) and carbohydrates contents of 24.13 and 17.89 %, respectively.

Gingerbread plum seed kernel from Sokoto state in Nigeria had moisture (12.55 %), ash (5.52 %), crude protein (23.24 %), crude fibre (7.67 %), crude lipid (50.50 %), carbohydrate (6.04 %) and energy value of 571.62 kcal/100 g (23). Gingerbread plum kernel oil from Niger and Guinea contained saturated fatty acids (15.57 and 15.29 %), monounsaturated (51.41 and 49.47 %) and polyunsaturated fatty acids (33.06 and 35.29 %) (19). In another study, the kernels from Niger and Guinea contained saturated fatty acids (15.90 and 17.18 %), monounsaturated (48.31 and 42.51 %) and polyunsaturated fatty acids (35.08 and 40.40 %) while α -tocopherol, β -tocopherol and δ -tocopherol were also found in the kernels (21). A golden yellow gingerbread plum seed oil contained acid value (12.97 mg KOH/g), free fatty acid (15.10 % Oleic), iodine value (32.07 I₂/100 g), saponification value (153.30) and peroxide value (meq H₂O₂) of 45.48 (24). The oil also contained oleic acid (40 %), eleostearic acid (31 %), linoleic acid (15 %), palmitic acid (12 %) and stearic acid (2 %) in addition to sterol A and B (25).

), β -tocoferol (3,17 e 34,49 %) e δ -tocoferol (8,44 e 11,22 %) (19). Reportou-se que o bolo de sementes de *N. macrophylla* tem um teor de humidade (12,32 %), teor de cinzas (6,53 %), teor de hidratos de carbono (13,19 %), proteína bruta (56,04), gordura bruta (4,51 %), fibra bruta (7,41 %), matéria seca (87,68 %) e valor de energia calorífica de 317,48 kcal/100 g (20).

A farinha de semente de ameixa de gengibre e a farinha de semente de ameixa de gengibre desengordurada tinham humidade (10,57 e 10,00 %), cinzas (4,43 e 6,43 %), hidratos de carbono (8,64 e 12,10 %), proteínas brutas (20,27 e 61,71 %), gordura (47,28 e 2,14 %) e fibra bruta de 8,70 e 7,37 %, respectivamente. A farinha também continha ácidos oleico (47,15 %), linoleico (19,10 %) e araquidónico (17,64 %) (3).

Um estudo confirmou que a ameixa de gengibre não refinada, do Níger e da Guiné, tem teor de óleo (56,15 e 60,60 %), índice de iodo (34,90 e 39,12 g I₂.100 g⁻¹), índice de saponificação (153,34 e 162,69 mg KOH g⁻¹), ácido oleico (0,33 e 0,34 %) e índice de peróxido (41,28 e 54,06 mg O₂.kg⁻¹), respectivamente (21).

Diaby et al. (22) reportaram que a pasta de miolo de ameixa de gengibre do Níger e da Guiné continha proteínas (18,41 e 19,56 %), cinzas (2,41 e 2,41 %), gordura (56,18 e 60,60 %), humidade (2,82 e 3,17 %) e teores de hidratos de carbono de 20,18 e 14,16 %, respectivamente, enquanto que a farinha dos dois locais continha proteínas (47,14 e 53,71 %), cinzas (6,25 e 6,59 %), gordura (10,54 e 11,36 %), humidade (11,94 e 10,44 %) e teores de hidratos de carbono de 24,13 e 17,89 %, respectivamente.

A semente de ameixa de gengibre do estado de Sokoto na Nigéria tinha humidade (12,55 %), cinzas (5,52 %), proteína bruta (23,24 %), fibra bruta (7,67 %), lípidos brutos (50,50 %), hidratos de carbono (6,04 %) e valor energético de 571,62 kcal/100 g (23).

O óleo do caroço da ameixa do Níger e da Guiné continha ácidos gordos saturados (15,57 e 15,29 %), monoinsaturados (51,41 e 49,47 %) e polinsaturados (33,06 e 35,29 %) (19). Noutro estudo, as ameixas de gengibre do Níger e da Guiné continham ácidos gordos saturados (15,90 e 17,18 %), monoinsaturados (48,31 e 42,51 %) e polinsaturados (35,08 e 40,40 %), enquanto que o α -tocoferol, o β -tocoferol e o δ -tocoferol também foram encontrados nas ameixas de gengibre (21). Um óleo de semente de ameixa de gengibre amarelo dourado continha índice de acidez (12,97 mg KOH/g), ácido gordo livre (15,10 % oleico), índice de iodo (32,07 I₂/100 g), índice de saponificação (153,30) e índice de peróxido (meq H₂O₂) de 45,48 (24). O óleo também contém ácido

Essential amino acids (such as histidine, threonine, valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, leucine and tryptophan) and nonessential amino acids (such as tyrosine, cysteine-s, aspartic acid, glutamic acid, serine, glycine, arginine, alanine and proline) were detected in the flour and paste of gingerbread plum from Niger and Guinea as well (22). Studies have shown that hydrolysis time has a positive effect on the nutritional and functional properties of protein hydrolysates from gingerbread plum seeds (26). Amino acids and protein contents alongside other biological parameters of the protein hydrolysates were significantly affected as the time of hydrolysis increased (27). The seeds also contained leucine, threonine, valine, isoleucine, methionine, cysteine, lysine, phenylalanine, tyrosine, glycine, alanine, serine, aspartic acid, glutamic acid, proline, arginine and histidine (28). Thiamine B1 (13.16 and 5.56 mg/100 g), riboflavin B2 (0.56 and 0.37 mg/100 g), pyridoxine B6 (1.15 and 0.83 mg/100 g) and biotin H (235.50 and 130.80 mg/100 g) were identified as the major vitamins from gingerbread plum kernel flours of Niger and Guinea, respectively (22).

In terms of mineral elements, the paste and flour of gingerbread plum were shown to predominantly contain calcium, phosphorus, magnesium, sodium, potassium, iron, copper, zinc and manganese, which varied between locations (22). The elemental composition of the gingerbread plum seed flour includes magnesium, potassium, calcium, copper, iron and manganese (3). The seed kernel from Sokoto state was shown to contain mineral elements such as sodium, potassium, calcium, phosphorus, manganese, iron, copper and zinc (23). In another study, the root bark of *N. macrophylla* contained copper, cadmium, lead, manganese, iron, magnesium, zinc, potassium, calcium and sodium (29).

Antinutritional contents including trypsin inhibitor (24.49 and 22.77 mg/g), phytic acid (3.19 and 4.51 g/100 g) and tannin (1.92 and 1.82 g/100 g) were identified in the flour of the plants from Niger and Guinea (22). Total oxalate (46.91 mg/100 gDW), tannin (112.78 mg/100 gDW), phytate (390.42 mg/100 gDW) and saponin (3.35 mg/100 gDW) were reported for the seed kernels collected from Sokoto state (23). Gingerbread plum kernel protein fractions contained glutelin (80.2 %), albumin (75.1 %), globulin (53.7 %) and prolamin (2.0 %). Total phenolic contents for the protein hydrolysates ranged from 14.6 – 40.7 µg/mL GAE (25).

oleico (40%), ácido eleostearico (31%), ácido linoleico (15%), ácido palmítico (12%) e ácido esteárico (2%), para além dos esteróis A e B (25).

Foram detectados aminoácidos essenciais (como histidina, treonina, valina, metionina, fenilalanina, isoleucina, leucina e triptofano) e aminoácidos não essenciais (como tirosina, cisteína-s, ácido aspártico, ácido glutâmico, serina, glicina, arginina, alanina e prolina) na farinha e na pasta de ameixa de gengibre do Níger e da Guiné também (22). Estudos mostraram que o tempo de hidrólise tem um efeito positivo nas propriedades nutricionais e funcionais dos hidrolisados proteicos das sementes de ameixa de gengibre (26). Os conteúdos de aminoácidos e proteínas, juntamente com outros parâmetros biológicos dos hidrolisados proteicos, foram significativamente afectados à medida que o tempo de hidrólise aumentava (27). As sementes também continham leucina, treonina, valina, isoleucina, metionina, cisteína, lisina, fenilalanina, tirosina, glicina, alanina, serina, ácido aspártico, ácido glutâmico, prolina, arginina e histidina (28). A tiamina B1 (13,16 e 5,56 mg/100 g), a riboflavina B2 (0,56 e 0,37 mg/100 g), a piridoxina B6 (1,15 e 0,83 mg/100 g) e a biotina H (235,50 e 130,80 mg/100 g) foram identificadas como as principais vitaminas das farinhas de ameixa de gengibre do Níger e da Guiné, respectivamente (22).

Em termos de elementos minerais, a pasta e a farinha de ameixa de gengibre mostraram conter predominantemente cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio, ferro, cobre, zinco e manganésio, os quais variaram entre diferentes locais (22). A composição elementar da farinha de sementes de ameixa de gengibre incluiu magnésio, potássio, cálcio, cobre, ferro e manganésio (3). Demonstrou-se que o caroço da semente do estado de Sokoto contém elementos minerais como sódio, potássio, cálcio, fósforo, manganésio, ferro, cobre e zinco (23). Noutro estudo, a casca da raiz de *N. macrophylla* continha cobre, cádmio, chumbo, manganésio, ferro, magnésio, zinco, potássio, cálcio e sódio (29).

Conteúdos antinutricionais incluindo inibidor de tripsina (24.49 e 22.77 mg/g), ácido fítico (3.19 e 4.51 g/100 g) e tanino (1.92 e 1.82 g/100 g) foram identificados na farinha do Níger e Guiné (22). O oxalato total (46,91 mg/100 gDW), taninos (112,78 mg/100 gDW), fitatos (390,42 mg/100 gDW) e saponinas (3,35 mg/100 gDW) foram reportados para as sementes de ameixas de gengibre do estado de Sokoto (23). As fracções proteicas da ameixa de gengibre continham glutelina (80,2 %), albumina (75,1 %), globulina (53,7 %) e prolamina (2,0 %).

Amza et al. (30) studied how different extraction, isolation and drying techniques can affect the physicochemical and functional properties of gingerbread plum seed protein by defatting, vacuum drying and freeze drying the samples. The freeze dried and vacuum dried gingerbread plum seed protein isolate contained 90 % protein while the defatted gingerbread plum flour contained 56.72 %. Thus, the method of drying can significantly affect the physicochemical parameters and functional characteristics of the isolates.

Gingerbread plum seed had a good solubility profile with pH 4 – 10 and it contained protein efficiency ratio of 2.35 % and amino acid score of 65.53 %. The seed recorded a water holding capacity of 3.01 and 3.12 g/g and forming capacity and stability of 145 mL/100 mL and 110 mL/100 mL, respectively (31). In addition, the seed had emulsifying capacity (29 %) and bulk density (0.30 g/mL) (31). The pulp of *N. macrophylla* was shown to contain approximately 60 % water in addition to proteins, lipids, vitamin C and other mineral elements (31).

Biodiesel from the seed oil registered a density (0.60 g/cm³), water and sediment content (0.42 %), saponification (84.20 mg/KOH), acid (0.45 mg/KOH), iodine (75 mg I₂/100 g), cetane (94.24 min) and heating (49 MJ/kg) value (21).

Bioactive compounds

The main bioactive constituents of *N. macrophylla* that contribute to its pharmacological or therapeutic actions are steroids, flavonoids and sugars (Figure 4).

There are slight variations in the constituents from the different parts of *N. macrophylla* which could possibly be due to genetic, environmental and harvest condition of the plant. The plant has been reported to contain sugars, proteins and steroids (15). *N. macrophylla* is composed mostly of polyphenolic compounds of the flavanol type in their simple or dimeric forms. Cook et al. (32) reported the presence of a flavonoid glycoside in the plant. Bis-(5, 7-diacetyl-catechin-4'- α -rhamnopyranoside) (13), epicatechin (33), (+)-catechin-3'-O-rhamnopyranoside (34) and catechin (35) were isolated from the ethyl acetate

O conteúdo fenólico total para os hidrolisados de proteína variou entre 14,6 - 40,7 μ g/mL GAE (25).

Amza et al. (30) estudaram como diferentes técnicas de extração, isolamento e secagem podem afectar as propriedades físico-químicas e funcionais da proteína da semente de ameixa de gengibre por desengorduramento, secagem a vácuo e liofilização das amostras. O isolado proteico de sementes de ameixa de gengibre liofilizado e secado a vácuo continha 90 % de proteínas, enquanto a farinha de ameixa de gengibre desengordurada continha 56,72 %. Assim, o método de secagem pode afectar significativamente os parâmetros físico-químicos e as características funcionais dos isolados.

A semente de ameixa de gengibre tinha um bom perfil de solubilidade com pH 4 - pH 10 e continha um rácio de eficiência proteica de 2,35 % e uma contagem de aminoácidos de 65,53 %. Repostou-se uma capacidade de retenção de água de 3,01 e 3,12 g/g e uma capacidade de formação e estabilidade de 145 mL/100 mL e 110 mL/100 mL, respectivamente (31). Apresentou capacidade emulsificante (29 %) e densidade aparente (0,30 g/mL) (31). Demonstrou-se que a polpa de *N. macrophylla* continha aproximadamente 60 % de água, para além de proteínas, lípidos, vitamina C e outros elementos minerais (31).

O biodiesel do óleo de semente tinha densidade (0,60 g/cm³), teor de água e sedimentos (0,42 %), índice de saponificação (84,20 mg/KOH), índice de acidez (0,45 mg/KOH), índice de iodo (75 mg I₂/100 g), índice de cetano (94,24 min) e índice de aquecimento de 49 MJ/kg (21).

Compostos bioativos

Os principais constituintes bioativos de *N. macrophylla* que contribuem para as suas ações farmacológicas ou terapêuticas são esteroides, flavonoides e açúcares (Figura 4).

Existem ligeiras variações nos constituintes das diferentes partes de *N. macrophylla*, que se podem dever às características genéticas, assim como às condições ambientais e de colheita da planta. Reportou-se que a planta contém açúcares, proteínas e esteroides (15). *N. macrophylla* é composta maioritariamente por compostos polifenólicos do tipo flavanol nas suas formas simples ou diméricas. Cook et al. (32) reportou a presença de um glicosídeo flavonoide na planta. Bis-(5,7-diacetil-catequina-4'- α -ramnopiranosídeo) (13), epicatequina (33), (+)-catequina-3'-O-ramnopiranosídeo (34) e catequina (35) foram isolados da fração solúvel em

soluble fraction of the methanol stem bark extract of the plant while quercetin (36) was isolated from the leaves of *N. macrophylla*. Ribeiro et al. (37) reported the identification of twenty-seven phenolic compounds from the leaves of the plant (using LC-MS) including, quercetin, kaempferol, apigenin and chrysoeriol glycosides, and 5-O-caffeoylquinic acid were found in abundance. Glucosamines such as β -D-Glc_p-(2→6)-[α -D-Fru_f-(4→6)] α -D-Glc_p-(6→6)- β -D-Fru_f and β -D-Fru_f-(1→2)- α -D-Glc_p-(5→6)-[β -D-Fru_f-(1→2)]- α -D-Fru_f-(5→6)- β -D-Glc_p were also isolated from the fruits of the plant (38). Mann et al. (39) also reported that the crude methanol extract of *N. macrophylla* contains alkaloids, saponins, steroids, carbohydrates, and tannins.

The root bark of the plant has been reported to contain tannins, flavonoids, steroids, alkaloids, cardiac glycosides and anthraquinones (29). Alkaloids, flavonoids, saponins, steroids, phenols and tannins were found in the ethanol and methanol root bark extracts of *N. macrophylla*. These constituents were similarly found in the fractions (*n*-hexane, chloroform and ethyl acetate) which varied depending on the polarity of the solvent (40).

The ethanol leaf extract of *N. macrophylla* indicated the presence of flavonoids, steroids, palmitoleic acid, alpha tocopherol, beta tocopherol, tannins and glycosides (41). The fruits and stem of *N. macrophylla* contained glycosides, steroids and alkaloids (14). Gingerbread plum seed oil was shown to contain alkaloids, tannins, saponins, flavonoids, steroids and terpenoids as the major secondary metabolites (5). *N. macrophylla* seed cake contains tannins, flavonoids and alkaloids (21). Carbohydrates, alkaloids, flavonoids, anthraquinones tannins, saponins, glycosides, steroids and triterpenes were reported to be present in the methanol stem bark extract of *N. macrophylla* (42).

The phytochemical analysis of the aqueous stem bark extract of the plant also indicated the presence of alkaloids, saponins, tannins, cardiac glycosides, carbohydrates, steroids and triterpenes as the major secondary metabolites (43). Stigmasterol has been isolated from the *n*-hexane soluble fraction of the methanol stem bark extract of the plant (13). Gingerbread plum seed oil contained fatty acids such as myristic acid, palmitic acid, stearic acid, palmitoleic acid, elaidic acid, oleic acid, erucic acid, behenic acid, heneicosanoic, icosatetraenoate and eicosatrienoic acid (44). The FT-IR analysis of the oil showed an

acetato de etila do extrato metanólico da casca do caule da planta, enquanto a quercetina (36) foi isolada das folhas de *N. macrophylla*. Ribeiro et al. (37) reportou a identificação de vinte e sete compostos fenólicos das folhas da planta (através de LC-MS), incluindo glicosídeos de quercetina, caempferol, apigenina e crisoeirol, e ácido 5-O-cafeoilquínico foram encontrados em abundância. Glucosaminas como β -D-Glc_p-(2→6)-[α -D-Fru_f-(4→6)] α -D-Glc_p-(6→6)- β -D-Fru_f e β -D-Fru_f-(1→2)- α -D-Glc_p-(5→6)-[β -D-Fru_f-(1→2)]- α -D-Fru_f-(5→6)- β -D-Glc_p também foram isoladas dos frutos da planta (38). Mann et al. (39) também reportou que o extrato metanólico bruto de *N. macrophylla* contém alcaloides, saponinas, esteroides, carboidratos e taninos.

Reportou-se que a casca da raiz da planta contém taninos, flavonoides, esteroides, alcaloides, glicosídeos cardíacos e antraquinonas (29). Alcaloides, flavonoides, saponinas, esteroides, fenóis e taninos foram encontrados nos extratos de etanol e metanol da casca da raiz de *N. macrophylla*. Estes constituintes foram encontrados de forma semelhante nas frações (*n*-hexano, clorofórmio e acetato de etilo), que variaram dependendo da polaridade do solvente (40).

O extrato etanólico de folhas de *N. macrophylla* indicou a presença de flavonoides, esteroides, ácido palmítico, alfa-tocoferol, beta-tocoferol, taninos e glicosídeos (41). Os frutos e o caule de *N. macrophylla* contém glicosídeos, esteroides e alcaloides (14). Reportou-se que o óleo de semente de ameixa-gengibre contém alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides, esteroides e terpenoides como os principais metabólitos secundários (5). O bolo de semente de *N. macrophylla* contém taninos, flavonoides e alcaloides (21). Carboidratos, alcaloides, flavonoides, antraquinonas, taninos, saponinas, glicosídeos, esteroides e triterpenos foram relatados como presentes no extrato metanólico da casca do caule de *N. macrophylla* (42).

A análise fitoquímica do extrato aquoso da casca do caule da planta também indicou a presença de alcaloides, saponinas, taninos, glicosídeos cardíacos, carboidratos, esteroides e triterpenos como os principais metabólitos secundários (43). O estigmasterol foi isolado a partir da fração solúvel em *n*-hexano do extrato metanólico da casca do caule da planta (13). O óleo de semente de ameixa-gengibre continha ácidos gordos como ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido palmítico, ácido eláidico, ácido oleico, ácido erúxico, ácido beénico, ácido heneicosanóico, ácido icosatetraenoico e ácido eicosatrienoico (44). A análise FT-IR do óleo

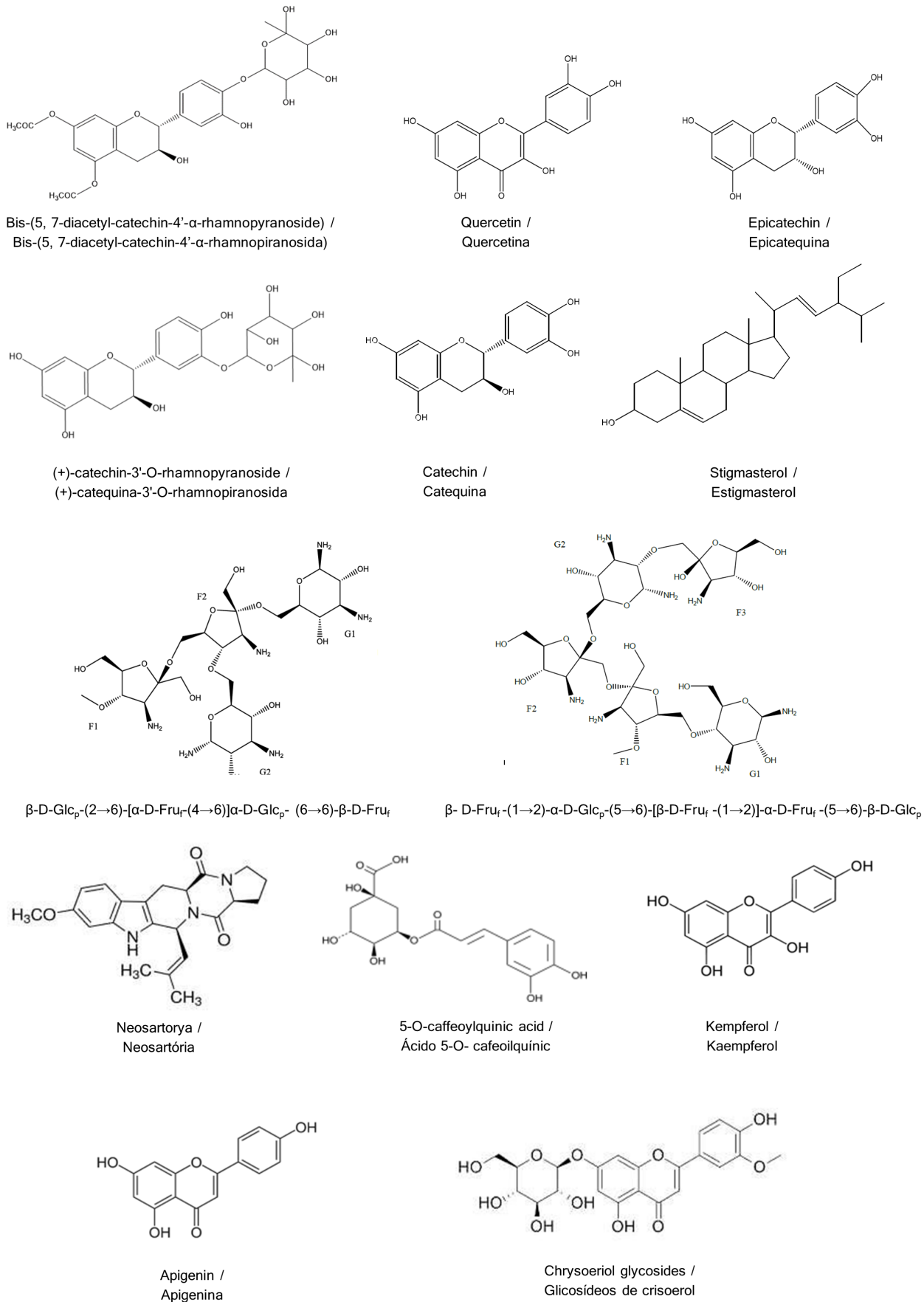


Figure 4 - Chemical constituents of *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F. White (Chrysobalanaceae)
Figura 4 - Constituintes químicos de *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F. White (Chrysobalanaceae)

absorption band at 3475.84 cm^{-1} which corresponds to O-H of carboxylic acid. Other functional groups identified by FT-IR include $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}$, C-O (44). Biodiesel from *N. macrophylla* contained methyl-9-octadecanoate, methyl-12-octadecanoate, methyl-hexadecanoate esters, octadecanoic and oleic acids (31).

Biological and pharmacological properties of *N. macrophylla*

An extensive review on the pharmacological actions of *N. macrophylla* and its constituents are presented in this section with additional information in Tables 1 and 2.

Antimycobacterial and antimicrobial activity

Antimycobacterial activity of *N. macrophylla* has previously been reported by Mann et al. (39). The *n*-hexane and methanol extracts of *N. macrophylla* did not show any significant effect against *Mycobacterium tuberculosis* (39). The antibacterial property of the ethanol root bark extract of *N. macrophylla* and its fractions (*n*-hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol) against *Klebsiella pneumoniae* have been reported with mean zone of inhibition (MIC) ranging from 9 – 15 mm (29).

The methanol stem bark extract of *N. macrophylla* showed good antimicrobial effect against some clinical isolates, including *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Candida albicans* and *Candida krusei* with MIC and MBC/MFC values ranging from 2.5 – 5.0 mg/mL and 5 – 20 mg/mL, respectively (42). Moreover, stigmasterol from the stem bark of *N. macrophylla* exhibited a broad-spectrum antimicrobial activity against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Vancomycin-Resistant enterococci (VRE), *S. aureus*, *S. faecalis*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *P. fluorescens*, *K. pneumoniae*, *C. albicans* and *C. krusei* with MIC and MBC/MFC values ranging from 6.25 – 25 $\mu\text{g/mL}$ and 12.5 – 50 $\mu\text{g/mL}$, respectively (45). In an *in vitro* antimicrobial study of (+)-catechin-3'-O-rhamnopyranoside from *N. macrophylla* stem bark, a good broad spectrum of antimicrobial activity was recorded against *S. aureus*, VRE, *S. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. krusei* with MIC values ranging from 6.25 – 25.0 $\mu\text{g/mL}$ and MBC/MFC ranging from 12.5 – 50 $\mu\text{g/mL}$ (34).

demonstrou a presença de uma banda de absorção a $3475,84\text{ cm}^{-1}$, correspondente ao O-H do ácido carboxílico. Outros grupos funcionais identificados por FT-IR incluem $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}$, C-O (44). O biodiesel de *N. macrophylla* contém ésteres de metil-9-octadecanoato, metil-12-octadecanoato, metil-hexadecanoato, ácidos octadecanóico e oleico (31).

Propriedades biológicas e farmacológicas da *N. macrophylla*

Uma revisão extensa das ações farmacológicas da *N. macrophylla* e dos seus constituintes é apresentada nesta secção com informação adicional nas Tabelas 1 e 2.

Actividades antimicobacterianas e antimicrobianas

A actividade antimicobacteriana da *N. macrophylla* foi previamente reportada por Mann et al. (39). Os extractos em *n*-hexano e metanol de *N. macrophylla* não mostraram qualquer efeito significativo contra *Mycobacterium tuberculosis* (39). A propriedade antibacteriana do extracto etanólico da casca do caule de *N. macrophylla* e das suas fracções (*n*-hexano, clorofórmio, acetato de etilo e metanol) contra *Klebsiella pneumoniae* foi reportada com uma concentração inibitória mínima (MIC) no intervalo de 9 - 15 mm (29).

O extracto metanólico da casca do caule de *N. macrophylla* mostrou um bom efeito antimicrobiano contra alguns isolados clínicos, incluindo *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Candida albicans* e *Candida krusei* com valores de MIC e MBC/MFC que variaram entre 2,5 - 5,0 mg/mL e 5 - 20 mg/mL, respectivamente (42). Além disto, o estigmasterol da casca do caule de *N. macrophylla* apresentou uma actividade antimicrobiana de amplo espectro contra *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), enterococci resistente à vancomicina (VRE), *S. aureus*, *S. faecalis*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *P. fluorescens*, *K. pneumoniae*, *C. albicans* e *C. krusei* com valores de MIC e MBC/MFC que variaram entre 6,25 - 25 $\mu\text{g/mL}$ e 12,5 - 50 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (45). Num estudo antimicrobiano *in vitro* da (+)-catequina-3'-O-rhamnopyranoside da casca do caule de *N. macrophylla*, demonstrou-se que este possui um bom e amplo espectro de actividade antimicrobiana contra *S. aureus*, VRE, *S. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* com valores MIC que variaram entre 6,25 - 25,0 $\mu\text{g/mL}$ e MBC/MFC no intervalo de 12,5 - 50 $\mu\text{g/mL}$

The ethanol leaf extract of *N. macrophylla* also recorded good antibacterial effect against some selected microorganisms (*E. coli*, *K. pneumoniae* and *S. aureus*) in a concentration dependent manner with MIC values ranging from 2.5 -5.0 mg/mL (41). The methanolic leaf extract and the ethyl acetate and *n*-butanol fractions of *N. macrophylla* exhibited good antimicrobial activity against *P. aeruginosa* and *S. aureus* with MIC and MBC values ranging from 3.125 – 37.5 mg/mL and 6.25 – 75 mg/mL, respectively. The ethyl acetate and *n*-butanol fractions also demonstrated very good biofilm inhibition activities against *S. aureus* (92 %) and *P. aeruginosa* (80.33 %), respectively (46).

Analgesic and anti-inflammatory activity

Based on the ethnomedicinal claim of the use of *N. macrophylla* to relieve pain, the analgesic property of the methanol stem bark extract of the plant was studied *in vivo* in experimental animal models using mice. The extract showed analgesic effect by significantly reducing the number of abdominal constrictions induced by acetic acid (47). (+)-catechin-3'-*O*-rhamnopyranoside from *N. macrophylla* stem bark was also able to diminish the nociceptive response induced by formalin, which suggests that it possesses a central acting analgesic effect with shorter onset and duration of action (34). It was also able to decrease the inflammation induced by formalin and the mechanism of action was related to the inhibition of histamine, serotonin and related substances, as well as the inhibition of prostaglandin synthesis (34). Similar results were obtained for saponin-rich fractions from the stem bark and root of *N. macrophylla* where both fractions had significant ($p < 0.05$) analgesic and anti-inflammatory activities in an animal model (Swiss albino rats) (48). Moreover, catechin from the stem bark of *N. macrophylla* significantly ($p < 0.05$) reduced the nociceptive response induced by formalin in both phase 1 and 2 and there was remarkable inhibition of formalin-induced inflammation in rats at the 1st, 2nd, and 3rd hours, though the effect was not statistically significant compared to the control (35).

(34). O extracto etanólico da folha de *N. macrophylla* também registou um bom efeito antibacteriano contra alguns microrganismos seleccionados (*E. coli*, *K. pneumoniae* e *S. aureus*) de uma forma dependente da concentração com um valor de MIC que variou entre 2,5 -5,0 mg/mL (41). O extracto metanólico da folha e as fracções de etilacetato e *n*-butanol de *N. macrophylla* exibiram uma boa actividade antimicrobiana contra *P. aeruginosa* e *S. aureus* com valores de MIC e MBC que variaram entre 3,125 - 37,5 mg/mL e 6,25 - 75 mg/mL, respectivamente. As fracções de etilacetato e *n*-butanol também demonstraram actividades de inibição de biofilme muito boas contra *S. aureus* (92%) e *P. aeruginosa* (80,33%), respectivamente (46).

Actividade analgésica e anti-inflamatória

Com base na alegação etnomedicinal da utilização de *N. macrophylla* para aliviar a dor, a propriedade analgésica do extracto metílico da casca do caule da planta foi estudada *in vivo* num modelo experimental animal usando ratos. O extracto mostrou um efeito analgésico, reduzindo significativamente o número de constrições abdominais induzidas pelo ácido acético (47). A (+)-catequina-3'-*O*-ramnopiranosídeo da casca do caule da *N. macrophylla* também foi capaz de diminuir a resposta nociceptiva induzida pela formalina, o que sugere que possui um efeito analgésico de acção central com um início e duração de acção mais curtos (34). Também foi capaz de diminuir a inflamação induzida pela formalina e o mecanismo de acção esteve relacionado com a inibição da histamina, serotonina e substâncias relacionadas, assim como como a inibição da síntese de prostaglandinas (34). Resultados semelhantes foram obtidos para as fracções ricas em saponina da casca do caule e da raiz de *N. macrophylla*, nos quais ambas as fracções apresentaram actividades analgésicas e anti-inflamatórias significativas ($p < 0,05$) em modelo animal (ratos albinos suíços) (48). Além disto, a catequina da casca do caule da *N. macrophylla* reduziu significativamente ($p < 0,05$) a resposta nociceptiva induzida pela formalina em ratos nas fases 1 e 2, e houve uma inibição notável da inflamação induzida pela formalina na 1^a, 2^a e 3^a hora, embora o efeito não tenha sido estatisticamente significativo em comparação com o do controlo (35).

Table 1 - Overview of the pharmacological actions of *N. macrophylla* (Sabine) Prance ex F. White (Chrysobalanaceae)

Plant part	Extract/Compound	Activity	References
Stem bark	<i>n</i> -Hexane, Methanol	Antimycobacterial	Mann et al., (39)
	Methanol	Antimicrobial	Yusuf et al., (42)
		Toxicity, Analgesic	Yusuf et al., (47)
		Antivenom	Yusuf et al., (49)
	Saponin-rich fraction	Toxicity, Analgesic, Anti-inflammatory	Yusuf et al., (48)
	Ethyl acetate, <i>n</i> -Butanol	Antivenom, Phospholipase A2 assay, Nociceptive, Anti-inflammatory	Yusuf et al., (35)
	Aqueous	Antidiabetic, toxicity	Ibrahim et al., (43)
Root bark	Ethanol	Antimicrobial	Halilu et al., (29)
	Saponin-rich fraction	Toxicity, Analgesic, Anti-inflammatory	Yusuf et al., (48)
	Ethanol, <i>n</i> -hexane, Chloroform, Ethyl acetate, Methanol	Antimicrobial	Datti et al., (40)
Leaves	Ethanol	Anthelmintic	Barnabas et al., (50)
		Antibacterial	Isaka et al., (41)
	Methanol	Antibacterial, Antibiofilm	Olowo-okere et al.,(46)
		Antivenom, Phospholipase A2 assay, toxicity	Yusuf et al., (36)
	Ethyl acetate	Antibacterial, Antibiofilm	Olowo-okere et al.,(46)
		Antivenom, Phospholipase A2 assay, toxicity	Yusuf et al., (36)
	<i>n</i> -Butanol	Antibacterial, Antibiofilm	Olowo-okere et al.,(46)
		Antivenom, Phospholipase A2 assay, toxicity	Yusuf et al., (36)
	Methanol	Anticancer	Ribero et al., (37)
Fruits	<i>n</i> -Hexane, Ethyl acetate, Methanol	Cytotoxic, Antimicrobial	Audu et al., (14)
		Antioxidant	Cook et al., (32)
Seeds	Oil	Toxicity	Ajayi et al., (51)
	Cake	Toxicity	Emmanuel et al., (20), Ajayi et al., (52)
Kernels	Oil	Antioxidant	Amza (26)
		Antioxidant	Diaby et al., (21)

Table 2 - Pharmacological actions of bioactive compounds from *N. macrophylla*

Compound	Plant part	Activity	Dose/ Concentration	Reference
Stigmasterol	Stem bark	Antimicrobial	100 – 3.13 µg/mL	Yusuf et al. (45)
Catechin	Stem bark	Antivenom	2.5 – 10 mg/kg	Yusuf et al. (35)
		Phospholipase A2 assay	0.5 mg/mL	
		Analgesic	2.5 – 10 mg/kg	
		Anti-inflammatory	2.5 – 10 mg/kg	
(+)catechin-3'-O-rhamnopyranoside	Stem bark	Antivenom	1 – 10 mg/kg	Yusuf et al. (34)
		Phospholipase A2 assay	0.5 mg/mL	
		Analgesic	2.5 – 10 mg/kg	
		Anti-inflammatory	2.5 – 10 mg/kg	
		Antimicrobial	1 – 10 mg/kg	
β-D-Glc _p -(2→6)-[α-D-Fru _f -(4→6)]α-D-Glc _p -(6→6)-β-D-Fru _f (Microphylllose A)	Fruits	Antivenom	1 – 5 mg/kg	Yusuf et al. (38)
		Phospholipase A2 assay	0.5 mg/mL	
β-D-Fru _f -(1→2)-α-D-Glc _p -(5→6)-[β-D-Fru _f -(1→2)]-α-D-Fru _f -(5→6)-β-D-Glc _p (Microphylllose B)	Fruits	Antivenom	1 – 5 mg/kg	Yusuf et al. (38)
		Phospholipase A2 assay	0.5 mg/mL	

Table 1 - Resumo das acções farmacológicas de *N. macrophylla* (Sabine) Prance ex F. White (Chrysobalanaceae)

Parte de planta	Extracto/Composto	Actividade	Referência
Casca do caule	<i>n</i> -Hexano, Metanol	Antimicobacteriano	Mann et al., (39)
	Metanol	Antimicrobiana	Yusuf et al., (42)
		Toxicidade, Analgésico	Yusuf et al., (47)
		Antiveneno	Yusuf et al., (49)
	Fracção rica em saponina	Toxicidade, Analgésico, Anti-inflamatório	Yusuf et al., (48)
	Etilacetato, <i>n</i> -Butanol	Antiveneno, Ensaio da Fosfolipase A2 Nociceptivo, Anti-inflamatório	Yusuf et al., (35)
	Aquoso	Antidiabético, toxicidade	Ibrahim et al., (43)
Casca da raiz	Etanol	Antimicrobiano	Halilu et al., (29)
	Fracção rica em saponina	Toxicidade, Analgésico, Anti-inflamatório	Yusuf et al., (48)
	Etanol, <i>n</i> -hexano, clorofórmio, acetato de etilo, metanol	Antimicrobiano	Datti et al., (40)
Folhas	Etanol	Anti-helmíntico	Barnabas et al., (50)
		Antibacteriano,	Isaka et al., (41)
	Metanol	Antibacteriano, Antibiofilme	Olowo-okere et al.,(46)
		Antiveneno, Ensaio da fosfolipase A2, toxicidade	Yusuf et al., (36)
	Acetato de etilo	Antibacteriano, Antibiofilme	Olowo-okere et al.,(46)
		Antivenom, Phospholipase A2 assay, toxicity	Yusuf et al., (36)
	<i>n</i> -Butanol	Antibacteriano, Antibiofilme	Olowo-okere et al.,(46)
		Antiveneno, Ensaio da fosfolipase A2, toxicidade	Yusuf et al., (36)
Frutos	Metanol	Anticancerígeno	Ribero et al., (37)
	<i>n</i> -Hexano, acetato de etilo, metanol	Citotóxico, antimicrobiano	Audu et al., (14)
		Antioxidante	Cook et al., (32)
Sementes	Óleo	Toxicidade	Ajayi et al., (51)
	Bolo	Toxicidade	Emmanuel et al., (20), Ajayi et al., (52)
Caroços	Óleo	Antioxidante	Amza (26)
		Antioxidante	Diaby et al., (21)

Tabela 2 - Acções farmacológicas dos compostos bioactivos da *N. macrophylla*

Composto	Parte da planta	Actividade	Dose / Concentração	Referência
Estigmasterol	Casca do caule	Antimicrobiana	100 – 3.13 µg/mL	Yusuf et al. (45)
Catequina	Casca do caule	Antiveneno	2.5 – 10 mg/kg	Yusuf et al. (35)
		Ensaio da fosfolipase A2	0.5 mg/mL	
		Analgésico	2.5 – 10 mg/kg	
		Anti-inflamatório	2.5 – 10 mg/kg	
(+)catequina-3'-O- ramnopiranosídeo	Casca do caule	Antiveneno	1 – 10 mg/kg	Yusuf et al. (34)
		Ensaio da fosfolipase A2	0.5 mg/mL	
		Analgésico	2.5 – 10 mg/kg	
		Anti-inflamatório	2.5 – 10 mg/kg	
β -D-Glc _p -(2→6)-(α-D-Fru _f (4→6))α-D-Glc _p -(6→6)-β-D-Fru _f (Microfilose A)	Frutos	Antimicrobiana	1 – 10 mg/kg	
		Antiveneno	1 – 5 mg/kg	Yusuf et al. (38)
		Ensaio da fosfolipase A2	0.5 mg/mL	
β -D-Fru _f (1→2)-α-D-Glc _p -(5→6)-[β-D-Fru _f (1→2)]-α-D-Fru _f (5→6)-β-D-Glc _p (Microfilose B)	Frutos	Antimicrobiana	1 – 10 mg/kg	
		Antiveneno	1 – 5 mg/kg	Yusuf et al. (38)
		Ensaio da fosfolipase A2	0.5 mg/mL	

Antivenom activity and phospholipase A₂ assay

N. macrophylla stem bark has demonstrated significant antivenom activity against *Naja nigricollis* venom (49). In another study, (+)-catechin-3'-*O*-rhamnopyranoside from the stem bark of *N. macrophylla* showed an impressive antivenom activity against *N. nigricollis* venom in mice with maximum protection (100 %) against venom-induced lethality. *N. macrophylla* was also able to inhibit the action of *N. nigricollis* PLA₂ enzyme activity *in vitro* (34). Similar antivenom effect against *N. nigricollis* venom was observed for the ethyl acetate and *n*-butanol soluble fractions of the stem bark of *N. macrophylla* and catechin isolated from the ethyl acetate fraction (35).

A more recent *in vitro* study revealed that the methanol leaf extract of *N. macrophylla* and its ethyl acetate and *n*-butanol fraction significantly protected mice against venom-induced lethality with 100 % survival rate and a remarkable inhibition of the poisonous effects of PLA₂ enzyme by the extract and its fractions was also observed (36).

Antioxidant and anthelmintic activity

Cook et al. (32) reported the *in vitro* antioxidant potential of the fruit/shell of *N. macrophylla* which was attributed to the presence of a flavonoid glycoside. In another study, the antioxidant activity of gingerbread plum kernel proteins was reported (26). Gingerbread plum kernel protein fractions hydrolysates (albumin, globulin and glutelin) had indicated a very good antioxidant effect (25). The fresh whole gingerbread plum kernels from Niger and Guinea exhibited good DPPH radical scavenging activity and reducing power in a dose-dependent manner (19). *N. macrophylla* leaf has also demonstrated moderate anthelmintic activity with slow recovery weight (50).

Cytotoxicity

The *in vitro* cytotoxic effect of the *n*-hexane, ethyl acetate and methanol fruit and stem extracts of *N. macrophylla* have been reported with IC₅₀ values of 201, 242 and 500, µg/mL respectively (14). Further fractionation of the ethyl acetate extract yielded six major fractions, of which A, C and F had IC₅₀ values of 20, 125 and 300 µg/mL, respectively (14). Cytotoxic effect of the leaves of *N. macrophylla* against human gastric AGS carcinoma cells was recently documented

Actividade antiveneno e ensaio de fosfolipase A₂

A casca do caule de *N. macrophylla* demonstrou uma actividade antiveneno significativa contra o veneno de *Naja nigricollis* (49). Noutro estudo, a (+)-catequina-3'-*O*-rhamnopyranoside da casca do caule de *N. macrophylla* mostrou uma actividade antiveneno impressionante contra o veneno de *N. nigricollis* em ratos com protecção máxima (100%) contra a letalidade induzida pelo veneno. Também foi capaz de inibir a acção da actividade enzimática de PLA₂ de *N. nigricollis in vivo* (34). Observou-se um efeito antiveneno semelhante contra o veneno de *N. nigricollis* no caso das fracções solúveis em etilacetato e *n*-butanol da casca do caule de *N. macrophylla* e da catequina isolada da fracção de etilacetato (35).

Um estudo *in vitro* mais recente revelou que o extracto metanólico da folha de *N. macrophylla* e a fracção em etilacetato e *n*-butanol deste protegeram os ratos significativamente contra a letalidade induzida pelo veneno, com uma taxa de sobrevivência de 100%, tendo sido também observada uma inibição notável dos efeitos venenosos da enzima PLA₂ pelo extracto e suas fracções (36).

Actividade anti-oxidante e anti-helmíntica

Cook et al. (32) reportaram o potencial antioxidante *in vitro* do fruto/casca de *N. macrophylla*, o qual foi atribuído à presença de um glicosídeo flavonóide na planta. Noutro estudo, reportou-se a actividade antioxidante das proteínas do caroço da ameixa de gengibre (26). Os hidrolisados das fracções proteicas do caroço da ameixa de gengibre (albumina, globina e glutelina) indicaram um efeito antioxidante muito bom (25). Os miolos das ameixas de gengibre inteiras e frescas do Níger e da Guiné apresentaram uma boa actividade de sequestro do radical DPPH e poder redutor de uma forma dependente da dose (19). A folha de *N. macrophylla* também demonstrou uma actividade anti-helmíntica moderada com um peso de recuperação lento (50).

Citotoxicidade

Reportou-se o efeito citotóxico *in vitro* dos extractos de *n*-hexano, acetato de etilo e metanol do fruto e caule de *N. macrophylla* com valores concentração inibitória média (IC₅₀) de 201, 242 e 500 µg/mL, respectivamente (14). O fraccionamento adicional do extracto de etilacetato produziu seis fracções principais, das quais A, C e F tinham valores IC₅₀ de 20, 125 e 300 µg/mL, respectivamente (14). O efeito citotóxico das folhas de *N. macrophylla* contra as células do carcinoma gástrico humano AGS foi recentemente

by Ribeiro et al. (37); the authors reported that the leaf of the plant caused apoptotic changes in gastric adenocarcinoma cells, relating apoptotic cell death to the activation of the mitochondrial pathway, since the loss of mitochondrial membrane potential and an increase in caspase-9 and -3 activities was detected.

Antidiabetic effect

N. macrophylla was reported to possess potent antidiabetic activity which validates the ethnomedicinal claim of the plant being used in the management of diabetes; the aqueous extract of the plant was able to regenerate the pancreatic islet cells at 2000 mg/kg (43).

Toxicity

Due to the widespread usage of *N. macrophylla* in traditional medicine, an acute toxicity study was conducted to determine the median lethal dose of the methanol stem bark extract of the plant. The intraperitoneal LD₅₀ of the extract in mice was found to be 283 mg/kg suggesting the extract to be toxic (47). There was no significant change in the haematological and biochemical parameters of the experimental animals that were fed with *N. macrophylla* seed cake (20).

Ajayi et al. (51) reported the acute and sub-chronic toxicological effect of *N. macrophylla* seed cake supplemented diets on albino rats. Ajayi et al. (52) reported the short-term toxicological effect of *N. macrophylla* seed oil and concluded that in moderate quantities, it is suitable for human consumption.

A moderate LD₅₀ value of 2154 and 1265 mg/kg was reported for the saponin-rich fractions of the stem bark and root of *N. macrophylla* (48). According to a study by Yusuf et al. (36) in mice models, the methanol leaf extract produced an LD₅₀ value of 288 mg/kg while 565 and 141 mg/kg were obtained for ethyl acetate and *n*-butanol fractions, indicating that the extract and its fractions are toxic. Ibrahim et al. (43) reported that the aqueous stem bark extract of the plant indicated no mortality after treatment suggesting an LD₅₀ value above 5000 mg/kg.

estudado por Ribeiro et al. (37); os autores reportaram que a folha da planta causou alterações apoptóticas nas células do adenocarcinoma gástrico, relacionando a morte celular apoptótica com a activação da via mitocondrial, uma vez que foi detectada a perda do potencial da membrana mitocondrial e também um aumento das actividades da caspase-9 e -3.

Efeito antidiabético

Reportou-se que a *N. macrophylla* possui uma actividade antidiabética potente que valida a alegação etnomedicinal do uso da planta na gestão da diabetes; o extracto aquoso da planta foi capaz de regenerar as células das ilhotas pancreáticas a 2000 mg/kg (43).

Toxicidade

Devido à utilização generalizada de *N. macrophylla* na medicina tradicional, realizou-se um estudo da toxicidade aguda para determinar a dose letal mediana (LD₅₀) do extracto metanólico da casca do caule da planta. A LD₅₀ intraperitoneal do extracto em ratos foi de 283 mg/kg, sugerindo que o extracto é tóxico (47). Não se registaram alterações significativas nos parâmetros hematológicos e bioquímicos dos animais experimentais que foram alimentados com bolo de sementes de *N. macrophylla* (20).

Ajayi et al. (51) reportaram o efeito toxicológico agudo e subcrónico de dietas suplementadas com bolo de sementes de *N. macrophylla* em ratos albinos. Ajayi et al. (52) reportaram o efeito toxicológico a curto prazo do óleo de sementes de *N. macrophylla* e concluíram que, em quantidades moderadas, é adequado para consumo humano.

Foi determinado um valor de LD₅₀ moderado de 2154 e 1265 mg/kg para as fracções ricas em saponina da casca do caule e da raiz de *N. macrophylla* (48). Segundo um estudo realizado por Yusuf et al. (36) em modelos de ratos, o extracto da folha em metanol produziu um valor LD₅₀ de 288 mg/kg, enquanto que 565 e 141 mg/kg foram determinados para as fracções de etilacetato e *n*-butanol, indicando que o extracto e as suas fracções são tóxicos. Ibrahim et al. (43) reportaram que o extracto aquoso da casca do caule da planta não apresentou qualquer mortalidade após o tratamento, sugerindo um valor LD₅₀ superior a 5000 mg/kg.

Others

The structure of *N. macrophylla*, a woody species used for food in the Dallol Bosso region of Niger, has been documented (55). The authors reported that the study provided a better picture of the status of this species, which points to the need to introduce sustainable management strategies (55).

Critique and Suggestions for Future Work

This review focused on a literature search on the available scientific knowledge of *N. macrophylla*, ranging from its botanical description, uses, physicochemical, phytochemical, and pharmacological actions. Each domain contributes to a holistic understanding of the plant and its potential applications.

Ethnobotanical significance of *N. macrophylla* is central to its interaction with human societies. In this area, the research delved into the cultural, traditional, and medicinal uses of the plant across different communities. An examination of ethnobotanical data allowed the elucidation of the role of the plant in traditional medicine and identified potential gaps or contradictions in the existing knowledge. Despite the wide usage of the plant in traditional medicine and other uses, the findings revealed the paucity of research conducted in the aspect of phytochemical and pharmacological studies. Few studies addressed some aspects of the ethnomedicinal claim of the use of the plant in the treatment of snakebite, microbial infections, pain and inflammation among others as well as the phytochemical constituents.

The chemical composition of *N. macrophylla* is a key focus area, as it directly influences the plant's pharmacological properties. An in-depth review of phytochemical studies highlighted the identified compounds and their potential therapeutic applications. Different authors have concluded that, most of the pharmacological actions of the plant might be attributed to the presence of the secondary metabolites detected in the plant. However, isolation and characterization of these bioactive constituents from the plant will improve future studies. Flavonoids are the most isolated compounds from *N. macrophylla*; flavonoids are a group of plant polyphenols found in fruits and vegetables that have varying levels of bioavailability. Human consumption studies suggest that the absorption and bioavailability of specific flavonoids are higher than initially believed (56). Isoflavones are considered the most bioavailable

Outros

A estrutura de *N. macrophylla*, uma espécie lenhosa utilizada para fins alimentares na região de Dallol Bosso do Níger, foi documentada (55). Os autores referiram que o estudo forneceu uma melhor ideia do estado desta espécie, o que aponta para a necessidade de introduzir estratégias de gestão sustentável (55).

Crítica e sugestões para trabalhos futuros

Esta revisão teve como foco a pesquisa bibliográfica sobre o conhecimento científico disponível sobre a *N. macrophylla*, incluindo a sua descrição botânica, usos, acções físico-químicas, fitoquímicas e farmacológicas. Cada domínio contribui para uma compreensão holística da planta e das suas potenciais aplicações.

O significado etnobotânico de *N. macrophylla* é fundamental para a sua interação com as sociedades humanas. Neste aspeto, a investigação debruçou-se sobre as utilizações culturais, tradicionais e medicinais da planta em diferentes comunidades. O estudo dos dados etnobotânicos permitiu elucidar o papel da planta na medicina tradicional e identificar potenciais lacunas ou contradições no conhecimento existente. Apesar da ampla utilização da planta na medicina tradicional e noutras utilizações, os resultados revelaram uma escassez de investigação realizada nas áreas fitoquímicas e farmacológicas. Poucos estudos abordaram alguns aspectos da alegação etnomedicinal da utilização da planta no tratamento de mordeduras de cobra, infecções microbianas, dor e inflamação, entre outros, bem como os constituintes fitoquímicos.

A composição química da *N. macrophylla* é uma área de foco chave, uma vez que influencia diretamente as propriedades farmacológicas da planta. Uma revisão aprofundada dos estudos fitoquímicos destacou os compostos identificados e as suas potenciais aplicações terapêuticas. Diferentes autores concluíram que a maioria das acções farmacológicas da planta podem ser atribuídas à presença dos metabolitos secundários detectados na planta. No entanto, o isolamento e a caracterização destes constituintes bioactivos da planta irão melhorar os estudos futuros. Os flavonóides são os compostos mais isolados da *N. macrophylla*; os flavonóides são um grupo de polifenóis vegetais encontrados em frutos e legumes que têm níveis variáveis de biodisponibilidade. Estudos sobre o consumo humano destes sugerem que a absorção e a biodisponibilidade de flavonóides específicos são mais elevadas do que se pensava inicialmente (56). As isoflavonas são consideradas a subclasse de flavonóides mais biodisponível, enquanto que as antocianinas e as catequinas galoiladas são pouco

subclass of flavonoids, while anthocyanins and galloylated catechins are poorly absorbed (57,58). Thus, efforts to enhance the bioavailability of flavonoids are ongoing to maximize their health benefits (58-59). The fruits of *N. macrophylla* are widely consumed in the northern part of Nigeria and West Africa as a whole in its natural raw form but only two compounds were isolated from the plant part; though antioxidant and anti-snake venom effect using solvent extracts and compounds, have been conducted. It would be important to conduct research that are closer to reality and will have more impact on humans due to its widespread usage.

Acute toxicity studies conducted on the extracts of the different parts of *N. macrophylla* indicated that the plant extracts are toxic. Effect of administration of the plant orally is yet to be validated scientifically. *N. macrophylla* is renowned for its various uses as medicine, food and cosmetics, yet its consumption raises concerns due to its toxicity. Compounds, such as phytates, oxalates, tannins, and alkaloids, can hinder nutrient absorption and pose potential health risks. Phytates may bind minerals, thereby reducing their bioavailability, while oxalates can contribute to kidney stone formation. Similarly, tannins can interfere with protein digestion, and alkaloids may have adverse effects on the nervous system. Understanding the toxic compounds in the plant is crucial for assessing its overall nutritional impact. The dose-dependent nature of toxicity suggests that moderate consumption may not pose significant risks. However, it's vital to be aware of potential health implications, especially for vulnerable populations. Exploring safe consumption levels and effective preparation methods, such as soaking or cooking, can mitigate antinutritional effects. Additionally, considering regulatory guidelines provides insights into managing risks associated with the plant.

It is important to note that there are a number of ethnomedicinal uses of the different parts of *N. macrophylla* that are yet to be studied and validated. More studies on the isolation and characterization of bioactive compounds would also be more desirable. Understanding the taxonomic aspects of *N. macrophylla* is the foundation towards elucidating its systematic placement, morphological characteristics, and genetic diversity. In this review,

absorvidas (57,58). Assim, estão a ser envidados esforços para aumentar a biodisponibilidade dos flavonóides a fim de maximizar os seus benefícios para a saúde (58-59). Os frutos de *N. macrophylla* são amplamente consumidos na parte norte da Nigéria e na África Ocidental como um todo na sua forma natural em bruto, mas apenas dois compostos foram isolados da parte da planta; embora tenham sido realizados estudos sobre os efeitos antioxidante e anti-veneno de cobra utilizando extractos em solventes e compostos. Seria importante realizar uma investigação mais próxima da realidade e que tenha mais impacto nos seres humanos devido à sua utilização generalizada.

Os estudos de toxicidade aguda realizados com os extractos das diferentes partes da *N. macrophylla* indicaram que os extractos da planta são tóxicos. O efeito da administração da planta por via oral ainda não foi validado cientificamente. *N. macrophylla* é conhecida pelas suas várias utilizações como medicamento, alimento e cosmético, mas o seu consumo suscita preocupações devido à sua toxicidade. Os compostos, como os fitatos, oxalatos, taninos e alcalóides, podem dificultar a absorção de nutrientes e representar riscos potenciais para a saúde. Os fitatos podem ligar-se com minerais, reduzindo assim a biodisponibilidade destes, enquanto os oxalatos podem contribuir para a formação de cálculos renais. Do mesmo modo, os taninos podem interferir com a digestão das proteínas e os alcalóides podem ter efeitos adversos no sistema nervoso. Compreender os compostos tóxicos da planta é crucial para avaliar o seu impacto nutricional global. O facto da toxicidade depender da dose sugere que o consumo moderado poderia não representar riscos significativos. No entanto, é vital estar consciente das potenciais implicações para a saúde, especialmente no caso das populações vulneráveis. A exploração de níveis de consumo seguros e de métodos de preparação eficazes, como o demolhar ou a cozedura, pode atenuar os efeitos antinutricionais. Além disto, a consideração das directrizes regulamentares fornece informações sobre a gestão dos riscos associados à planta.

É importante mencionar que há uma série de utilizações etnomedicinais das diferentes partes da *N. macrophylla* que ainda não foram estudadas e validadas. Mais estudos sobre o isolamento e a caracterização de compostos bioactivos seriam também mais desejáveis. A compreensão dos aspectos taxonómicos de *N. macrophylla* é a base para a elucidação da sua classificação sistemática, características morfológicas e diversidade genética. Nesta revisão, foi apresentada uma análise crítica

a critical analysis of existing taxonomic studies was presented, highlighting discrepancies or unresolved issues within the classification. Furthermore, recent advancements in molecular techniques may offer insights into the evolutionary relationships of *N. macrophylla* with other taxa.

Conclusion

Overall, the available data on *N. macrophylla* has shown that there are quite a number of medicinal properties that are yet to be studied and validated scientifically. Additionally, *N. macrophylla* could also be used as a constituent of diets, a source of nutrients, in biodiesel production, as a source of oil and in food supplementation.

Authors Contributions Statement

YAJ conceived and designed the study, retrieved the relevant literature and drafted the manuscript. AMI provided helpful comments and revised the manuscript. MAA, HAW, IKG and PR assisted in retrieving literature and revised the manuscript. GB and FZB edited the final manuscript. All authors read and approved the final version of the manuscript.

Funding

Gabrielle Bangay gratefully acknowledges Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal) for funding this project through DOI 10.54499/UIDP/04567/2020, DOI 10.54499/UIDB/04567/2020 and UI/BD/151422/2021. Florencia Z. Brauning acknowledges the support of Fundação Calouste Gulbenkian for this work N°. 275123.

Conflict of Interests

A preprint of the above titled paper was published online on 1 November 2021.

dos estudos taxonómicos existentes, destacando discrepâncias ou questões não resolvidas no âmbito da classificação. Além disto, os recentes avanços nas técnicas moleculares podem oferecer informações sobre as relações evolutivas de *N. macrophylla* com outros taxa.

Conclusão

No geral, os dados disponíveis sobre *N. macrophylla* mostraram que esta possui um grande número de propriedades medicinais que ainda não foram estudadas e validadas cientificamente. Para além disto, *N. macrophylla* poderia também ser utilizada como constituinte de dietas, fonte de nutrientes, na produção de biodiesel, como fonte de óleo e na suplementação alimentar.

Declaração sobre as contribuições do autor

YAJ concebeu o estudo e o seu desenho, recuperou a literatura relevante e elaborou o manuscrito. AMI forneceu comentários úteis e revisou o manuscrito. MAA, HAW, IKG e PR ajudaram na recuperação da literatura e revisaram o manuscrito. GB e FZB editaram o manuscrito final. Todos os autores leram e aprovaram a versão final do manuscrito.

Financiamento

A Gabrielle Bangay agradece à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal) pelo financiamento deste projeto através de DOI 10.54499/UIDP/04567/2020, DOI 10.54499/UIDB/04567/2020 e UI/BD/151422/2021. A Florencia Z. Brauning agradece o apoio da Fundação Calouste Gulbenkian neste trabalho N°. 275123.

Conflito de Interesses

Uma pré-impressão do artigo com o título acima foi publicada online em 1 de novembro de 2021.

References / Referências

1. Mamadaliyeva, N.Z., Akramov, D.K., Wessjohann, L.A., Hussain, H., Long, C., Tojibaev, K.S., Alshammari, E., Ashour, M.L., & Wink, M. (2021). The Genus *Lagochilus* (Lamiaceae): A Review of Its Diversity, Ethnobotany, Phytochemistry, and Pharmacology. *Plants*, 10, 132. <https://doi.org/10.3390/plants10010132>.
2. Gras, A., Hidalgo, O., D'Ambrosio, U., Parada, M., Garnatje, T. & Vallès, J. (2021). The Role of Botanical Families in Medicinal Ethnobotany: A Phylogenetic Perspective. *Plants*, 10, 163. <https://doi.org/10.3390/plants10010163>.
3. Amza, T., Amadou, I., Kamara, M.T., Zhu, K. & Zhou, H. (2010). Chemical and nutrient analysis of Gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*) seeds. *Advance J Food Sci Tech*, 2, 191-195.
4. Arbonnier, M. (2004). *Trees, Shrubs and Lianas of West African Dry Zones*, Margraf Publishers: Cidrad. pp. 250-251.
5. Warra, A.A., Umar, R.A., Sani, I., Gafar, M.K., Nasiru, A. & Ado, A. (2013). Preliminary phytochemical screening and physicochemical analysis of Ginger bread plum (*Parinari macrophylla*) seed oil. *J Pharmacogn Phytochem*, 1, 20-25.
6. White, F. (1976). *Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique*, 46, 308.
7. Dressler, S., Schmidt, M. & Zizka, G. (2014). *Neocarya* African plants – a Photo Guide. Frankfurt/Main: Forschungsinstitut Senckenberg.
8. Yakandawala, D., Morton, C.M., & Prance, G.T. (2010). Phylogenetic relationships of the Chrysobalanaceae inferred from chloroplast, nuclear, and morphological data. *Annals Missouri Botanical Garden*, 97, 259-281.
9. Prance, G.T. (1988). *Flora do Estado de Goiás*. Goiânia: Ed. Da Universidade Federal de Goiás.
10. Evanilson, A.F., Haroudo, S.X. & Karina, P.R. (2012). Chrysobalanaceae: Traditional uses, Phytochemistry and Pharmacology. *Brazilian J Pharmacol*, 22, 1181-1186.
11. Burkill, H.M. (1985). *The Useful Plants of West Tropical Africa*. 2nd Edition, Royal Botanic Gardens Kew: England, pp. 636.
12. National Research Council. (2008). *Lost Crops of Africa*. Vol: 3, Fruits. National Academies Press, pp. 262-269.
13. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I., Haruna, A.K.; Idris, A.Y. & Musa, A.M. (2015a). Isolation and characterization of stigmasterol and Bis-(5,7-diacetyl-catechin-4'- α -rhamnopyranoside) from the stem bark of *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance (Chrysobalanaceae). *Nig J Basic Applied Sci*, 21, 15-22.
14. Audu, O.T., Oyewale, A.O. & Amupitan, J.O. (2005). The biological activities of secondary metabolites of *Parinari macrophylla* Sabine. *ChemClass Journal*, 2, 19-21.
15. Friedrick, R.I. (1961). *Woody plants Ghana*. Oxford University Press: London, pp. 868.
16. Mohagheghzadeh, A., Faridi, P., Shams-Ardakani, M. & Ghasemi, Y. (2006). Medicinal smokes. *J Ethnopharmacol*, 108, 161-184.
17. Tidjani, A., Issoufou, A., Mohamed, T.K., Kexue, Z. & Huiming, Z. (2010). Chemical and nutrient analysis of Gingerbread Plum (*Neocarya macrophylla*) seeds. *Advanced J Food Sci Technol*, 2, 191-195.
18. Warra, A.A. (2012). Extraction and Saponification of Gingerbread Plum (*Parinari macrophylla*) Seed oil. *J Scientific Theory Methods*, 168 – 188.
19. Diaby, M., Tidjani, A., Gbago, O., Khamis, A.O., Xiao, Q.Z. & Qing, Z.J. (2017). Physicochemical properties of refined and unrefined oils of gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*) kernels from Guinea and Niger. *International J Advance Agricultural Res*, 5, 29 – 39.
20. Emmanuel, N.I., Ibrionke, A.A. & Stacy, A.A. (2017). Assessment of acute and sub-chronic toxicological effects of *Neocarya macrophylla* seed cake on wistar rats. *Annals Food Sci Technol*, 18, 700 – 712.
21. Diaby, M., Amza, T., Onivogui, G., Zou, X.Q. & Jin, Q.Z. (2016a). Physicochemical and antioxidant characteristics of gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*) kernel oils. *Grasas Aceites*, 67, e117. <https://doi.org/10.3989/gya.0362151>.
22. Diaby, M., Amza, T., Onivogui, G., Zou, X.Q. & Jin, Q.Z. (2016b). Chemical composition, antinutritional evaluation and phenolic compounds in gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*) kernel. *European Acad Res*, 4, 4602 – 4626.
23. Muhammad, S., Umar, K.J. & Sani, N.A.; Muhammad, S. (2015). Evaluation of nutritional and anti-nutritional profiles of Ginger bread plum (*Neocarya macrophylla*) seed kernel from Sokoto State, Nigeria. *International J Sci Technol*, 4, 361-367.
24. Amza, T., Amadou, I., Zhu, K.X. & Zhou, H.M. (2011a). Effect of extraction and isolation on physicochemical and functional properties of an underutilized seed protein: Gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*). *Food Res International*, 44, 2843–2850.
25. Tidjani, A., Issoufou, A., Abdourahamane, B. & HuiMing, Z. (2015). Antioxidant capacity of hydrolyzed protein fractions obtained from an under-explored seed protein: Gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*). *J Food Sci Technol*, 52, 2770–2778.
26. Amza, T., Balla, A., Tounkara, F., Man, L. & Zhou, H.M. (2013). Effect of hydrolysis time on nutritional, functional and antioxidant properties of protein hydrolysates prepared from gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*) seeds. *International Food Res J*, 20, 2081-2090.
27. Warra, A.A. (2012). Extraction and Saponification of Gingerbread Plum (*Parinari macrophylla*) Seed oil. *J Scientific Theory Methods*, 168 – 188.
28. Muhammad, S. & Umar, K.J. (2015). Analyses of nutritional and antinutritional composition of the peels of gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*) fruits. *International J Sci Technol*, 4, 1 – 6.
29. Halilu, M.E., Abah, J.O., Almustapha, N.L. & Achor, M. (2010). Phytochemical Screening and Mineral Element Analysis of the Root Bark of *Parinari macrophylla* Sabine (Chrysobalanaceae) and its effect on Microorganisms. *Continental J Biol Sci*, 3: 46-50.
30. Amza, T., Amadou, I., Kamara, M.T., Zhu, K.X. & Zhou, H.M. (2011b). Nutritional and functional characteristics of gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*): An underutilized oilseed. *Grasas y Aceites*, 62, 290–298.
31. Muktar, M. & Dabai, M.U. (2016). Production and fuel properties of biodiesel from Gingerbread plum (*Parinari macrophylla*) seed oil using MgO/Al₂O₃ catalyst. *American J Environ Protection*, 5, 128-133. <https://doi.org/10.11648/jajep.20160505.14>
32. Cook, J.A., Vanderjagt, D.J., Dasgupta, A., Mounkaila, G., Glew, R.S., Blackwell, W. & Glew, R.H. (1998). Use of the tolox assay to estimate the antioxidant content of seventeen edible wild plants of Niger. *Life Sci*, 63, 105-110.
33. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I., Musa, A.M., Haruna, A.K., Mzozoyana, V. & Sanusi, A. (2019b). Isolation of Epicatechin from the Stem Bark of *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance (Chrysobalanaceae). *Nig J Basic and Applied Sci*, 27, 101-107. <https://doi.org/10.4314/njbas.v27i2.14>
34. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I., Musa, A.M., Haruna, A.K., Mzozoyana, V. & Abubakar, H. (2019c). Bioactive (+)-Catechin-3 -O-rhamnopyranoside from *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance (Chrysobalanaceae). *Egyptian J Basic Appl Sci*, <https://doi.org/10.1080/2314808X.2019.1673549>

35. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I., Musa, A.M., Haruna, A.K., Mzozoyana, V., Biambo, A.A. & Abubakar, H. (2020). A bioactive flavan-3-ol from the stem bark of *Neocarya macrophylla*. *Scientific African*, 7, e00273. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00273>.
36. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I., Musa, A.M., Haruna, A.K., Mzozoyana, V. & Abubakar, H. (2019a). Antisnake venom activity and isolation of quercetin from the leaf of *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F. White (Malpighiales: Chrysobalanaceae). *Braz. J. Biol. Sci.*, 6, 381-389. <https://doi.org/10.21472/bjbs.061306>.
37. Ribeiro, V., Ferreres, F., Oliveira, A.P., Gomes, N.G.M., Gil-Izquierdo, Á., Araújo, L., Pereira, D.M., et al. (2022). HPLC-DAD-ESI/MSⁿ and UHPLC-ESI/QTOF/MSⁿ characterization of polyphenols in the leaves of *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance ex F. White and cytotoxicity to gastric carcinoma cells, *Food Res International*, Volume 155, 111082, ISSN 0963-9969, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111082>.
38. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I., Musa, A.M., Haruna, A.K., Mzozoyana, V. & Adegboyega A.E. (2021). Biochemical evaluation and molecular docking assessment of glucosamines from *Neocarya macrophylla* fruits against *Naja nigricollis* venom, *Carbohydrate Res*, Volume 509, 108436, ISSN 0008-6215, <https://doi.org/10.1016/j.carres.2021.108436>.
39. Mann, A., Kolo, I., Adebayo, O.O., Joseph, O.A. & Joseph, I.O. (2009). Antimycobacterial activity of some medicinal plants in Niger state, Nigeria. *Afr. J. Infect. Dis*, 3, 44 -48.
40. Datti, Y., Musbahu, L., Shuaibu, M.M., Abubakar, S.A., Salihu, I., Isa, B.K., Usman, L.A., Nafisa, A.M., Dikko, M.A. & Ahmed, U.U. (2020). Determination of the phytochemical constituents and the antibacterial activity of the root bark extract of *Neocarya macrophylla* (Sabine) prance, against *Klebsiella pneumoniae*, an ear infection-causing pathogen. *FUDMA J Sci*, 4, 89 – 92.
41. Isaka, I., Gumel, A.M., Muhammad, H.Y. & Kemi, A.F. (2017). Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of *Neocarya macrophylla* Leaves Extract. *LIFE: International J Health Life-Sci*, 3, 18 – 34.
42. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I., Haruna, A.K., Musa, A.M., Abdullahi, M.S., Ibrahim, Z.Y.Y., Halilu, M.E. & Odiba, O.J. (2015b). Phytochemical and antimicrobial evaluation of the methanol stem bark extract of *Neocarya macrophylla*. *J Chem Pharm Res*, 7, 477-481.
43. Ibrahim, A.A., Abdussalami, M.S., Appah, J. et al. (2017). Antidiabetic effect of aqueous stem bark extract of *Parinari macrophylla* in alloxan-induced diabetic Wistar rats. *Futur J Pharm Sci*, 7, 164. <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00303-6>.
44. Warra, A.A., Hassan, L.G., Babatola, L.J., Omodolapo, A.A., Ukpanukpong, R.U., Berena & G.A. (2019). Characterization of *Neocarya macrophylla* seed oil using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and Fourier Transform Infra-Red (FT-IR) Techniques. *Chem Sci International J*, 28, 1 – 7.
45. Yusuf, A.J.; Abdullahi, M.I.; Aleku, G.A.; Ibrahim, I.A.A.; Alebiosu, C.O.; Yahaya, M.; Adamu, H.W.; Sanusi, A.; Mailafiya, M.M.; Abubakar, H. Antimicrobial activity of stigmaterol from the stem bark of *Neocarya macrophylla*. *J Med Plants Economic Dev*, 2018, 2, 1-5. <https://doi.org/10.4102/jomped.v2i1.38>
46. Olowo-okere, A.; Yusuf, A.J.; Shuaibu, A.B.; Abdullahi, M.I.; Aleku, G.A.; Nuhu, T.; Ungokore, H.Y.; Ogunyinka, I.A. Antibacterial and anti-biofilm activities of *Neocarya macrophylla* against clinical bacterial isolates. *Nigerian Journal of Pharmaceutical Research*, 2018, 14, 111-119.
47. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I., Haruna, A.K., Musa, A.M., Ibrahim, Z.Y.Y. & Uba, A. (2015c). Acute toxicity studies and evaluation of analgesic property of the methanol stem bark extract of *Neocarya macrophylla*. *J Applied Pharm Sci*, 5, 061-064.
48. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I., Rufai, A.A., Bala, A.B., Abubakar, A., Abdulrahman, M., Alebiosu, C.O., Biambo, A.A. & Umaru, M.L. (2019d). Effect of saponin-rich fractions of *Neocarya macrophylla* on murine models of pain and inflammation. *Asian J Biol Sci*, 12, 349–355. <https://doi.10.3923/ajbs.2019.349.355>
49. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I., Haruna, A.K., Idris, A.Y. & Musa, A.M. (2015d). Preliminary phytochemical screening, toxicological and antivenin property of the stem bark of *Neocarya macrophylla* on *Naja nigricollis* venom. *African J Pharm Res Dev*, 7, 6-10.
50. Barnabas, B.B., Mann, A., Ogunrinola, T.S. & Anyanwu, P.E. (2010). Screening of anthelmintic activities from extracts of *Zanthoxylum zanthoxyloides*, *Neocarya macrophylla* and *Celosia laxa* against *Ascaris* Infection in Rabbits. *International J Applied Res Nat Products*, 3, 1 – 4.
51. Ajayi, I.A., Ifedi, E.N. & Anibuko, A.S. (2018). Acute and sub-chronic toxicological effect of Gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*) seed cake supplemented diets on albino rats. *American Chem Society, Nig. International Chem Sci Chapter*, 12 – 13.
52. Ajayi, I.A., Ifedi, E.N. & Adebola, O.M. (2019). Short-term toxicological evaluation of *Neocarya macrophylla* seed oil-based diets in albino rats. *J. Chem Soc. Nigeria*, 44, 453 – 465.
53. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I. & Musa, A.M. (2020). Identification of novel compounds from *Neocarya macrophylla* against toxins from *Naja nigricollis* using computational approach. 6th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry session Round Table on Natural Products 10.3390/ECMC2020-07697 (registering DOI) held between 1st – 30th November.
54. Yusuf, A.J., Abdullahi, M.I., Musa, A.M., Abubakar, H., Muhammad, A.A. & Nasir, A.H. (2021). Potential inhibitors of SARS CoV-2 from *Neocarya macrophylla*: Chemoinformatic and Molecular modeling studies against three key targets. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, DOI: 10.4274/tjps.galenos.2021.57527.
55. Aboubacar, K., Douma, S., Moussa, M.B. & Djermakoye, S.R.S. (2018). Structure of natural stands of *Neocarya macrophylla* (Sabine) Prance, a woody species used for food in the Dallol Bosso region of Niger. *Bois et Forêts des Tropiques*, 337, 67 – 78.
56. Ross, J. A., & Kasum, C. M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual review of nutrition*, 22, 19–34. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.111401.144957>
57. Hollman, P. C. (2004). Absorption, bioavailability, and metabolism of flavonoids. *Pharmaceutical biology*, 42(sup1), 74-83. <https://doi.org/10.3109/13880200490893492>
58. Meena, N. L., Verma, P., Pande, R., Kumar, M., Watts, A., & Gupta, O. P. (2020). Bioavailability and Nutritional Analysis of Flavonoids. *Plant Phenolics in Sustainable Agriculture: Volume 1*, 135-156. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4890-1_6
59. Hu, M. (2007). Commentary: bioavailability of flavonoids and polyphenols: call to arms. *Molecular pharmaceutics*, 4(6), 803-806. <https://doi.org/10.1021/mp7001363>

Improvement of patients' antibiotic adherence: a descriptive analysis of pharmacists' interventions

Melhor adesão dos doentes aos antibióticos: uma análise descritiva da intervenção farmacêutica

Carla Pires  

Keywords: pharmacist, antibiotics, adherence, pharmacy, controlled trials

Palavras-chave: farmacêutico antibióticos, adesão, farmácia, ensaios controlados

To Cite:

Pires, C. (2024) Improvement of patients' antibiotic adherence: a descriptive analysis of pharmacists' interventions. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 21(1), 109-126.

 [10.19277/bbr.21.1.337](https://doi.org/10.19277/bbr.21.1.337)

CBIOS - Research Center for Biosciences & Health Technologies, Lusófona University, Campo Grande 376, 1749-024 Lisboa, Portugal

Correspondence to / Correspondência a:
p5558@ulusofona.pt

Received / Recebido: 29/05/2024
Accepted / Aceite: 05/08/2024

Abstract

Community and hospital pharmacists are responsible for the correct dispensation of antibiotics and patient counselling. This descriptive study aimed to identify the potentially effective pharmacists' interventions which improved patients' antibiotic adherence, based on the findings of a set of studies identified in a previous developed systematic review. Only controlled trials evaluating the impact of pharmaceutical interventions on patient adherence to antibiotics, i.e., intervention group vs. usual care/control group were conveniently selected. These studies were grouped and analyzed based on the distinction between trials with significant vs. non-significant improvements on patients' adherence to antibiotics. Twenty-one trials were identified, but only 2/3 presented statistically significant results. Diverse pharmaceutical interventions significantly improved patients' antibiotic adherence, such as structured interventions, the use of visual aids, detailed counseling, written information, call-back phone calls, or the dispensation of personalized doses of antibiotics. Reinforced pharmacist education is likely to be especially relevant in the case of complex therapies (e.g., *H. pylori* treatment) and/or low literacy patients. In conclusion, structured and/or reinforced pharmaceutical interventions can significantly improve patients' antibiotic adherence in community or hospital pharmacies, according to some of the analyzed studies.

Resumo

Os farmacêuticos comunitários e hospitalares são responsáveis pela dispensa correta de antibióticos e pelo aconselhamento dos doentes. Este estudo descritivo teve como objetivo identificar as intervenções farmacêuticas potencialmente mais eficazes na melhoria da adesão dos doentes aos antibióticos baseado nos resultados de um conjunto de estudos, que foram identificados numa revisão sistemática previamente desenvolvida. Apenas ensaios controlados com avaliação do impacto das intervenções farmacêuticas na adesão dos doentes aos antibióticos i.e., grupo de intervenção vs. grupo de cuidados habituais/controlado foram convenientemente selecionados. Esses estudos foram agrupados e analisados com base na distinção entre ensaios com melhorias na adesão significativas vs. não significativas. Foram identificados 21 ensaios, mas apenas 2/3 destes ensaios apresentaram resultados estatisticamente significativos. Diversas intervenções farmacêuticas melhoraram significativamente a adesão dos doentes aos antibióticos, tais como intervenções estruturadas, a utilização de recursos visuais, aconselhamento detalhado, informações escritas, retorno de chamadas telefónicas ou a dispensa de doses personalizadas de antibióticos. É provável que uma educação farmacêutica reforçada seja especialmente relevante no caso de terapias complexas (por exemplo, tratamento de *H. pylori*) e/ou em doentes com baixo nível de literacia. Em conclusão, intervenções farmacêuticas estruturadas e/ou reforçadas podem melhorar significativamente a adesão dos doentes aos antibióticos em farmácias comunitárias ou hospitalares de acordo com alguns dos estudos em análise.

Introduction

Patient adherence to antibiotics is defined as “the patient completing the antibiotic course as prescribed and not self-medicating without a doctor’s prescription” (1). There are diverse methodologies to assess patient adherence, such as self-reporting, interviews, administration of questionnaires, pill count, pick-up/refill rates, electronic devices to dispense medicines, therapeutic drug supervising, such as monitoring the drug (or its metabolites) in the bloodstream. The selection of the best methodology may be dependent on the type of research design, data availability, and study aims (2,3).

Pharmacists are the healthcare professionals responsible for the correct dispensation of antibiotics as well as patient counselling both at community and hospital pharmacies (4). The dispensation of medicines at community pharmacies can be structured in six main steps: “(1) receiving and clarifying legality and completeness of prescriptions, (2) profiling and verifying patient prescriptions, (3) preparing prescription labels and containers, (4) dispensing correct medications in the correct quantity, (5) inspecting dispensing accuracy, (6) handing over medications and providing counselling” (5). There is a similar organization in the medication dispensing process in hospital pharmacies, as in the case of outpatient medication and the pharmaceutical advice provided to patients (6).

A positive impact of pharmacists’ interventions on patients’ adherence to antibiotics is reported in diverse studies. For instance, follow-up phone calls to reinforce patient recommendations or provision of written information, such as medicine package inserts plus pharmacist advice (7,8). In contrast, according to some reports, pharmacists frequently ask a minimal number of questions and/or provide limited counselling regarding the dispensation of antibiotics without prescription such as in low- and middle-income countries (9). Additionally, the dispensing practice of antibiotics in community pharmacies in some developed countries (e.g., Greece, Lithuania, Poland, and Spain) did not seem to be compliant

Introdução

A adesão do doente aos antibióticos é definida como “o doente que completa o tratamento com antibióticos conforme prescrito e não se automedica sem prescrição médica” (1). Existem diversas metodologias para avaliar a adesão do doente, como auto reporte, entrevistas, aplicação de questionários, contagem de comprimidos, taxas na interrupção ou aquisição de medicamentos, dispositivos eletrónicos para dispensa de medicamentos, supervisão terapêutica, como monitorização do medicamento (ou dos seus metabolitos) na corrente sanguínea. A seleção da melhor metodologia pode depender do tipo de desenho de pesquisa, disponibilidade de dados e objetivos do estudo (2,3).

Os farmacêuticos são os profissionais de saúde responsáveis pela correta dispensa de antibióticos, bem como pelo aconselhamento dos doentes, tanto na farmácia comunitária como hospitalar (4). A dispensa de medicamentos nas farmácias comunitárias pode ser estruturada em seis etapas principais: “(1) receber e confirmar a legalidade e integridade das prescrições, (2) traçar o perfil e verificar as prescrições dos doentes, (3) preparar rótulos e as embalagens dos medicamentos, (4) dispensar os medicamentos certos na quantidade certa, (5) inspecionar se os medicamentos são dispensados de modo preciso, (6) dispensar os medicamentos e aconselhar o doente” (5). Verifica-se uma organização semelhante no processo de dispensa de medicamentos nas farmácias hospitalares, como no caso da medicação ambulatória e no aconselhamento farmacêutico prestado aos doentes (6).

As intervenções farmacêuticas produziram um impacto positivo na adesão dos doentes aos antibióticos, o que é reportado em diversos estudos. Por exemplo, telefonemas de acompanhamento para reforçar as recomendações aos doentes ou fornecimento de informações escritas, como nos folhetos informativos de medicamentos, além de aconselhamento farmacêutico (7,8). Em contrapartida, de acordo com alguns estudos, os farmacêuticos frequentemente colocam um número mínimo de perguntas e/ou prestam um aconselhamento limitado, relativamente à dispensa de antibióticos sem receita médica, por exemplo em países de baixo e médio rendimento (9). Além disso, a dispensa de antibióticos nas farmácias comunitárias em alguns países desenvolvidos (e.g., Grécia, Lituânia, Polónia e Espanha) também não parece estar em conformidade com as diretrizes da União Europeia

with European Union (EU) guidelines, regarding the dispensation of these medicines (10,11). According to this guideline, pharmacists should:

- Dispense antimicrobials with a prescription, unless specific provisions allow for regulated dispensation in specific circumstances;
- Ensure that the patient and/or the carer understands the dosage and duration of treatment, as this can improve adherence and increase treatment success;
- Promote appropriate disposal of remaining (unused) antimicrobials;
- Notify adverse events related to antimicrobials in accordance with regulations;
- Participate in local, regional, or national public health campaigns promoting the prudent use of antimicrobials;
- Provide advice to patients and health professionals with regard to contraindications, drug interactions, and food–drug interactions (11).

Diverse factors can significantly influence patients' adherence to antibiotic treatments, such as communication and information about medicines, gender, educational status, attitudes toward antibiotic use, the occurrence of adverse drug reactions, and/or prescription information. Additionally, limited communication and information was associated with lower adherence, which can be explained by constraints in patients' knowledge and understanding; males presented lower adherence than females, which the authors indicated could be due to women's tendency to be more careful regarding health issues; a lower education was associated with lower adherence, which may be explained by an inadequate awareness about the rational use of antibiotics and poor understanding of instructions; a poor attitude was associated with lower adherence, which may be explained by the patients' negative attitudes, such as fear of adverse drug reactions; the occurrence of side effects was associated with lower adherence, which may be explained by patient discomfort; and insufficient information was associated with lower adherence,

(EU), relativamente à dispensa destes medicamentos (10,11). De acordo com esta diretriz, os farmacêuticos devem:

- Dispensar antimicrobianos mediante receita médica, a menos que alguma disposição específica permita a dispensa regulamentada em circunstâncias específicas;
- Garantir que o doente e/ou o prestador de cuidados compreende a dosagem e a duração do tratamento, pois isso pode melhorar a adesão e aumentar o sucesso do tratamento;
- Promover a eliminação adequada dos desperdícios de antimicrobianos;
- Notificar eventos adversos relacionados a antimicrobianos de acordo com a regulamentação;
- Participar em campanhas de saúde pública locais, regionais ou nacionais que promovam a utilização prudente de agentes antimicrobianos;
- Aconselhar os doentes e os profissionais de saúde relativamente a contraindicações, interações medicamentosas e interações entre alimentos e medicamentos (11).

Existem diversos fatores que podem influenciar significativamente a adesão dos doentes aos antibióticos, tais como a comunicação e informação sobre os medicamentos, o género, nível de escolaridade, atitudes em relação ao uso de antibióticos, ocorrência de reações adversas, o que pode ser explicado pelo desconforto do doente e/ou informações sobre a prescrição. Adicionalmente, uma comunicação e informação limitada foi associada a uma pior adesão, o que pode ser explicado por constrangimentos nos conhecimentos e compreensão dos doentes; os homens apresentaram pior adesão do que as mulheres, o que, segundo os autores, pode dever-se a uma tendência das mulheres para serem mais cuidadosas em relação a questões de saúde; uma menor escolaridade foi associada a uma pior adesão, o que pode ser explicado por uma consciência inadequada sobre o uso racional de antibióticos e uma insuficiente compreensão das instruções; uma atitude inadequada foi associada a uma pior adesão, o que pode ser explicado por atitudes negativas dos doentes, como medo de reações adversas a medicamentos; a ocorrência de efeitos colaterais foi associada à pior adesão e informações insuficientes foram associadas a pior adesão, o que pode ser

which may be explained by limited patient knowledge (12). Other variables with a significant impact on patient adherence to antibiotics are the duration of treatment (long-term therapy was associated with lower adherence, as patients are required to take the medication for a longer period), age (younger age was associated with lower adherence, as younger patients are likely to be less worried about their health problems), or characteristics of the condition for which the antibiotic was prescribed (e.g., not having a chronic disease or not taking other medications was associated with lower adherence, which is likely explained by the increased awareness of health problems and complications in chronic and poly-medicated patients) (13). These types of associations may vary between studies, such as between research conducted in different countries or settings (12,13). Overall, the number and types of variables with a possible impact on patient adherence to antibiotics are very diverse (13).

Non-adherence to antibiotics may be associated with unsuccessful treatment, such as an insufficient duration of treatment, and/or development of antimicrobial resistances, which can be life-threatening. Antimicrobial resistance is a natural phenomenon which occurs over time as a consequence of the exposure of microorganisms to antimicrobials, leading to genetic changes in pathogens. The principal mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria are persistence, resistance, and tolerance (14). For instance, Carbapenem-resistant *Acinetobacter*, *Candida auris*, *Clostridioides difficile*, Carbapenem-resistant *Enterobacterales*, and drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* are identified as urgent threats in the list of the bacteria and fungi of the 2019 antimicrobial resistance Threats Report from the US Center of Diseases Control and Prevention (15).

Furthermore, there are few studies specifically reporting and analysing the impact of pharmacist led intervention on antibiotic adherence (16). Thus, the study aim was to identify potentially effective pharmacists' interventions, which improved patients' antibiotic adherence.

explicado pelo conhecimento limitado do doente (12). Outras variáveis com impacto significativo na adesão dos doentes aos antibióticos são a duração do tratamento (a terapia de longa duração foi associada a uma pior adesão, uma vez que os doentes são obrigados a tomar a medicação por um período mais longo), a idade (ser mais jovem foi associado a pior adesão, uma vez que doentes mais jovens provavelmente estarão menos preocupados com seus problemas de saúde), ou características da condição para a qual o antibiótico foi prescrito (por exemplo, não ter uma doença crónica ou não tomar outros medicamentos foi associado a uma pior adesão, o que pode ser explicado porque os doentes crónicos e polimedicados provavelmente estarão mais conscientes dos problemas e complicações de saúde) (13). Estes tipos de associações podem variar entre estudos, como entre pesquisas realizadas em diferentes países ou condições de concretização das investigações (12,13). Globalmente, o número e os tipos de variáveis com um possível impacto na adesão dos doentes aos antibióticos são muito diversificados (13).

A não adesão aos antibióticos pode estar associada ao insucesso do tratamento, como por exemplo devido a uma duração insuficiente de tratamento e/ou ao desenvolvimento de resistências antimicrobianas, que podem ser fatais. A resistência antimicrobiana é um fenómeno natural, que ocorre ao longo do tempo como consequência da exposição de microrganismos a antimicrobianos, levando a alterações genéticas nos agentes patogénicos. Os principais mecanismos da resistência antimicrobiana em bactérias são persistência, resistência e tolerância (14). Por exemplo, *Acinetobacter* resistente ao carbapenem, *Candida auris*, *Clostridioides difficile*, *Enterobacterales* resistente a carbapenem e *Neisseria gonorrhoeae* resistente a medicamentos estão identificados como ameaças urgentes na lista de bactérias e fungos do relatório de ameaças de resistência antimicrobiana de 2019 do Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA (15).

Além disso, existem poucos estudos que reportem e analisem especificamente o impacto da intervenção liderada por farmacêuticos na adesão aos antibióticos (16). Assim, o objetivo do estudo foi identificar as intervenções farmacêuticas potencialmente eficazes na melhoria da adesão dos doentes aos antibióticos.

Materials and Methods

Type of study

The present work is a descriptive study of conveniently selected studies (rather than a review). A narrative synthesis was carried out based on qualitative and/or quantitative data from these conveniently selected studies. This set of studies (here analyzed) were selected from a previously developed systematic review, which followed the requisites of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA) checklist and flow diagram were followed (17). The material and methods of this systematic review were previously published (18). The detailed project of this systematic review can be consulted in the Registry Services – Open Science Framework (OSF) (19). The inclusion criteria, screened databases, and keywords from the mentioned systematic review are below described for a better comprehension of the type of the included and analyzed studies (controlled trials) in the present descriptive study (18,19).

Inclusion criteria

Controlled trials with the aim of evaluating the impact of pharmacists' interventions on patients' adherence to antibiotics in community or hospital pharmacies. Only original and peer-reviewed papers were included (18,19).

Screened databases and keywords

Four databases were screened: PubMed, Cochrane Library, SciELO, and Academic Google. The browsed keywords were, as follows: "patient adherence or compliance"; "antibiotic or antimicrobial or antibacterial or antibacterian"; "community pharmacy"; "hospital pharmacy"; pharmacist and trial (18).

Adopted methodology to organize the conveniently selected studies into groups

The conveniently selected studies (i.e., trials comparing pharmacist intervention vs. a control or routine care group) were grouped into three groups (please see the section of results): (i) studies reporting effective pharmacists' interventions (if $p < 0.001$); (ii) studies reporting other effective pharmacist interventions (if $p < 0.05$), and (iii) studies not reporting effective improvements on patient adherence to antibiotics (if $p > 0.05$). This criterion was defined to facilitate the organization of the selected papers, since statistical calculus or evaluations were not carried out in the present descriptive study. The p-value was

Material e Métodos

Tipo de estudo

O presente trabalho é um estudo descritivo de estudos convenientemente selecionados (em vez de uma revisão). Uma síntese narrativa foi realizada com base em dados qualitativos e/ou quantitativos dos estudos convenientemente selecionados. Este conjunto de estudos (aqui analisados) foi selecionado a partir de uma revisão sistemática previamente desenvolvida, que seguiu os requisitos da Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA) (17). O material e os métodos desta revisão sistemática foram anteriormente publicados (18). O projeto detalhado desta revisão-sistemática pode ser consultado no Registry Services – Open Science Framework (OSF) (19). Os critérios de inclusão, bases de dados utilizadas e palavras-chave da referida revisão sistemática estão descritos a seguir para uma melhor compreensão sobre o tipo de estudos incluídos e analisados (ensaios controlados) no presente estudo descritivo (18,19).

Critério de inclusão

Ensaios controlados com o objetivo de avaliar o impacto das intervenções farmacêuticas na adesão dos doentes aos antibióticos em farmácias comunitárias ou hospitalares. Apenas, artigos originais e revistos por pares foram incluídos (18,19).

Bases de dados e palavras-chave selecionados

Foram pesquisadas quatro bases de dados: PubMed, Cochrane Library, SciELO e Academic Google. As palavras-chave pesquisadas foram: "adesão ou cumprimento do doente"; "antibiótico ou antimicrobiano ou anti-bacteriano ou antibacteriano"; "farmácia comunitária"; "farmácia hospitalar"; farmacêutico e ensaio (18).

Metodologia adotada para organizar os estudos convenientemente selecionados em grupos

Os estudos convenientemente selecionados (i.e., ensaios que comparam a intervenção farmacêutica vs. um grupo de controlo ou grupo dos cuidados de rotina) foram agrupados em três grupos (ver secção de resultados): (i) estudos que reportam intervenções farmacêuticas eficazes (se $p < 0,001$); (ii) estudos que reportam outras intervenções farmacêuticas eficazes (se $p < 0,05$) e (iii) estudos que não reportam intervenções farmacêuticas eficazes na adesão dos doentes aos antibióticos (se $p > 0,05$). Este critério foi definido para facilitar a organização dos artigos

specifically selected to organize the selected studies from a descriptive point of view, because measures such as confidence intervals and other dimension metrics were not provided in all the selected studies. Additionally, different statistical methodologies were adopted in the selected studies, such as Fisher's exact test, Kruskal–Wallis, Mann–Whitney tests, independent student's t-test, etc. (4,7,8,20-38). The p-value was conveniently used as it was a common statistical measure between all the selected studies.

Results

Globally, 21 studies (controlled trials) were selected (4,7,8,20-38).

Studies reporting effective pharmacists' interventions

When comparing the groups of pharmacist intervention vs. usual care (control), more significant differences ($p < 0,001$) were achieved with the following methodologies: use of a syringe with a line marked at the correct dose and the respective demonstration on how to use the syringe to ensure a correct/precise dosing ($p = 0,0001$) (20); the use of an educational leaflet in addition to pharmacist counselling ($p = < 0,0005$) (21); structured counselling about complex/multiple therapies (e.g., *H. pylori* treatment) plus additional follow-up measures ($p < 0,001$) (22); the use of individual/personalized doses of antibiotic ($p < 0,00$) (23), or the application of a model (i.e., a structured pharmacist intervention), followed by follow-up phone call ($p < 0,001$) (7). The pharmacists' most significant interventions ($p < 0,001$) on patient adherence are presented in Figure 1.

Studies reporting other effective pharmacists' interventions

The compliance/comprehension of nonliterate patients to antibiotics was statistically significantly improved, with the administration of specifically produced visual aids or a visual aid together with an advanced organizer (e.g., an explanation on how to use the antibiotic) ($p < 0,05$) (24). Compliance with treatment and eradication of *H. pylori* was improved

selecionados, uma vez que não foram realizados cálculos ou avaliações estatísticas no presente estudo descritivo. O valor p foi selecionado especificamente para organizar os estudos selecionados do ponto de vista descritivo, porque medidas, como intervalos de confiança e outras métricas de dimensões, não foram descritas em todos os estudos selecionados. Além disso, diferentes metodologias estatísticas foram adotadas nos estudos selecionados, como por exemplo, o teste exato de Fisher, Kruskal–Wallis, Mann–Whitney, teste t de Student independente, etc. (4,7,8,20-38). O valor p foi convenientemente utilizado por ser uma medida estatística comum entre todos os estudos selecionados.

Resultados

Globalmente, foram selecionados 21 estudos (ensaios controlados) (4,7,8,20-38).

Estudos que reportam intervenções farmacêuticas eficazes

Ao comparar os grupos de intervenção farmacêutica vs. cuidados habituais (controlo), foram alcançadas diferenças mais significativas ($p < 0,001$) com as seguintes metodologias: utilização de uma seringa com uma linha para marcar a dose correta e respetiva demonstração de como usar de modo a assegurar uma dosagem correta/precisa ($p = 0,0001$) (20); utilização de um folheto educativo complementar à orientação farmacêutica ($p = < 0,0005$) (21); aconselhamento estruturado sobre terapêuticas complexas/múltiplas (e.g., tratamento do *H. pylori*) mais medidas de acompanhamento adicionais ($p < 0,001$) (22); utilização de doses individuais/personalizadas de antibiótico ($p < 0,00$) (23) ou a aplicação de um modelo (ou seja, uma intervenção farmacêutica estruturada), seguida de um telefonema de acompanhamento ($p < 0,001$) (7). As intervenções dos farmacêuticos mais significativas ($p < 0,001$) na adesão dos doentes são apresentadas na Figura 1.

Estudos que reportam outras intervenções farmacêuticas eficazes

A adesão/compreensão dos doentes de menor literacia aos antibióticos melhorou significativamente, com a administração de recursos visuais produzidos especificamente ou recursos visuais em conjunto com um organizador avançado (por exemplo, uma explicação sobre como usar o antibiótico) ($p < 0,05$) (24). A adesão ao tratamento e erradicação do *H. pylori* foi melhorada pelo aconselhamento

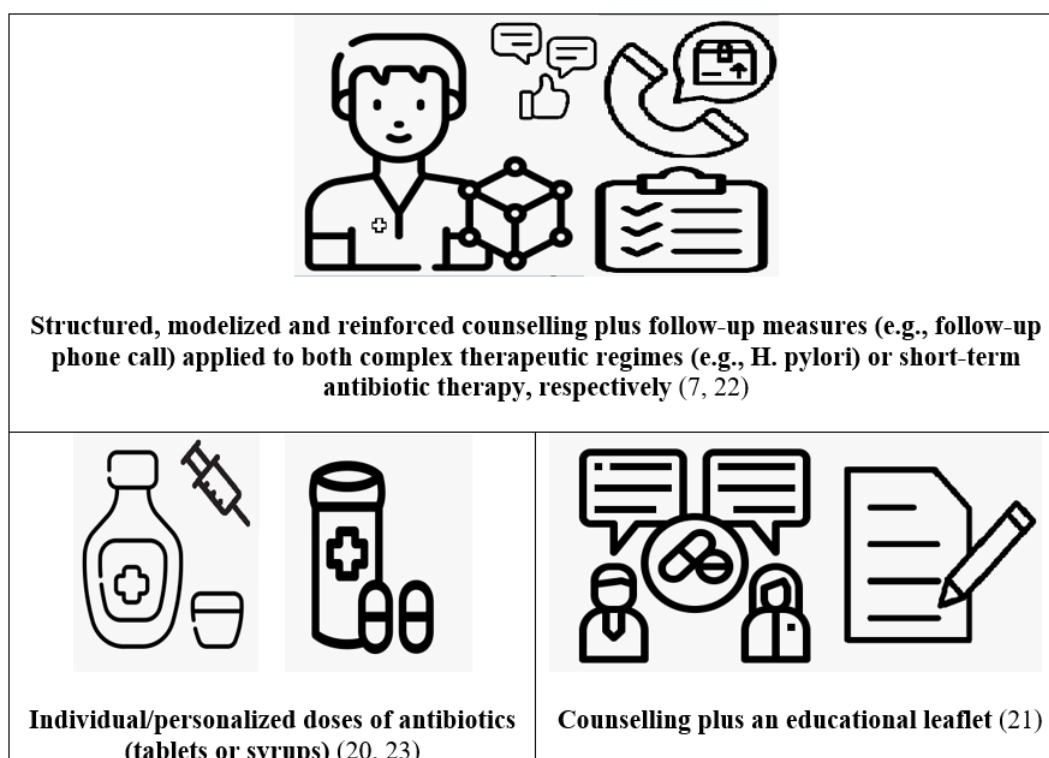


Figure 1 - Effective pharmacists' interventions on patient adherence according to the cited studies (control vs. intervention) ($p < 0.001$). All images "Designed by Freepik".



Figura 1 - Intervenções dos farmacêuticos eficazes na adesão dos doentes de acordo os estudos citados (controle vs. intervenção) ($p < 0,001$). All images "Designed by Freepik".

Table 1 - Effective pharmacists' interventions on patient adherence according to the cited studies (control vs. intervention) ($p < 0.05$)**Tabela 1** - Intervenções eficazes dos farmacêuticos na adesão dos doentes de acordo com os estudos citados (controle vs. intervenção) ($p < 0,05$)

References / Referências	Intervention / Intervenção
24	Visual aid with (or without) written information / Auxílio visual com (ou sem) informações escritas
4,25-26,28,29	Reinforced and/or more detailed counselling compared to routine advice, including for complex therapies (e.g., <i>H. pylori</i> treatment) / Aconselhamento reforçado e/ou mais detalhado em comparação com aconselhamento de rotina, incluindo para terapias complexas (por exemplo, tratamento de <i>H. pylori</i>)
27,30-31	Counselling (or more detailed counselling) plus written information (e.g., package inserts) or a call-back / Aconselhamento (ou aconselhamento mais detalhado) mais informações por escrito (por exemplo, folhetos informativos) ou chamadas de retorno

by pharmacist counselling ($p < 0.05$) (25). Reinforced/detailed education about the correct use of antibiotics compared to routine advice significantly improved adherence ($p = 0.033$) or reduced 6-month hospital readmissions (patients with bone and joint infections) ($p < 0.05$) (4,26). Intensive counselling and a call-back produced a positive and significant impact on adherence in comparison to routine care ($p = 0.053$) (27). Improved compliance rates and/or clinical outcomes were also achieved with intensive/detailed counselling (intervention group) when compared to the administration of basic information about antibiotic treatment (control group) ($p < 0.05$) (28,29). Counselling plus written information (e.g., provision of a package insert) (intervention) produced a positive and significant impact on adherence in comparison to only routine counselling (control) ($p < 0.05$) (30, 31). Pharmacists' significant interventions ($p < 0.05$) on patient adherence are presented in Table 1.

Studies not reporting effective improvements

Altogether, 1/3 of trials ($n=7$) did not achieve statistically significant results regarding an improved patient adherence to antibiotics. The results for these seven studies follow (32-38):

- Detailed pharmacist counselling did not promote an extra benefit in *H. pylori* eradication,

farmacêutico ($p < 0,05$) (25). A educação reforçada/detalhada sobre o uso correto de antibióticos em comparação com o aconselhamento de rotina melhorou significativamente a adesão ($p = 0,033$) ou reduziu as readmissões hospitalares no prazo de 6 meses (doentes com infecções ósseas e articulares) ($p < 0,05$) (4,26). O aconselhamento intensivo e chamadas telefônicas produziram um impacto positivo e significativo na adesão em comparação aos cuidados de rotina ($p = 0,053$) (27). Melhores taxas de adesão e/ou resultados clínicos também foram alcançadas com aconselhamento intensivo/detalhado (grupo intervenção) quando comparado à administração de informações básicas sobre tratamento antibiótico (grupo controle) ($p < 0,05$) (28,29). Aconselhamento mais informações escritas (por exemplo, disponibilização de folhetos informativos) (intervenção) produziram um impacto positivo e significativo na adesão em comparação apenas ao aconselhamento de rotina (controle) ($p < 0,05$) (30,31). As intervenções significativas dos farmacêuticos ($p < 0,05$) na adesão dos doentes são apresentadas na Tabela 1.

Estudos que não reportam intervenções farmacêuticas eficazes

No total, 1/3 dos ensaios ($n = 7$) não alcançaram resultados estatisticamente significativos, relativamente à melhoria da adesão dos doentes aos antibióticos. Os resultados para estes sete estudos são a seguir apresentados (32-38):

- O aconselhamento farmacêutico detalhado não proporcionou um benefício extra na erradicação

symptoms, and treatment adherence to treatment/antibiotics (both groups received counselling by a pharmacist: usual-care counselling vs. detailed intervention group). However, the proportion of self-reported missing doses was lower in the intervention group (without statistical significance) (32).

- Oral and written information on antibiotic treatment plus an additional follow-up phone call did not improve compliance to treatment (intervention) when compared to a group that only received oral and written information on antibiotic treatment (control) (33).
- A positive impact on patients' antibiotic adherence and satisfaction was achieved with Pharmacist-led motivational interviewing sessions, but without statistical significance (34).
- Adherence and recall of labels were quantitatively better in the intervention (written labels) than in the control group (no medication counselling), but without statistically significant differences (35).
- Patients in the intervention group (reinforced/detailed counselling about antibiotic treatment) were more adherent than those in the control group (brief education), although without statistically significant differences (36).
- The provision of pictograms about a drug regimen can contribute to improve adherence to antibiotics in comparison to usual care, but without a statistically significant difference (37).
- An implementation intention strategy for antibiotic treatment (e.g., the patient deciding about when and where to take the antibiotic) did not improve antibiotic adherence with statistical significance (38).

In sum, a higher proportion of patients' adherence to antibiotics was found in intervention groups in comparison to control groups in all identified trials (n=7), although the differences were not statistically significant (32-38).

do *H. pylori*, nos sintomas e na adesão ao tratamento/antibióticos (ambos os grupos receberam aconselhamento por um farmacêutico vs. grupo de intervenção com aconselhamento detalhado). Embora, a proporção de doses que os doentes declararam não tomar tenha sido inferior no grupo de intervenção (sem significado estatístico) (32).

- Informações orais e escritas sobre o tratamento com antibióticos, além de um telefonema adicional de acompanhamento, não melhoraram a adesão ao tratamento (intervenção), quando comparado a um grupo que recebeu apenas informações orais e escritas sobre o tratamento com antibióticos (controle) (33).
- Um impacto positivo na adesão e satisfação dos doentes aos antibióticos foi alcançado com sessões de entrevistas motivacionais conduzidas por farmacêuticos, mas sem significado estatístico (34).
- A adesão e a memorização dos rótulos foram quantitativamente melhores na intervenção (rótulos escritos) do que no grupo controle (sem aconselhamento), mas sem diferenças estatisticamente significativas (35).
- Os doentes no grupo de intervenção (aconselhamento reforçado/detalhado sobre tratamento antibiótico) tiveram uma adesão superior do que os doentes do grupo de controle (educação breve), embora sem diferenças estatisticamente significativas (36).
- A disponibilização de pictogramas sobre o regime terapêutico pode contribuir para melhorar a adesão aos antibióticos em comparação aos cuidados habituais, mas sem diferenças estatisticamente significativas (37).
- Uma estratégia de intenção de implementação para o tratamento com o antibiótico (por exemplo, o doente decide quando e onde tomar o antibiótico) não melhorou a adesão aos antibióticos com significado estatístico (38).

Foi encontrada uma proporção superior de adesão dos doentes aos antibióticos nos grupos de intervenção comparativamente aos grupos de controle em todos os ensaios identificados (n=7), cujas diferenças não foram estatisticamente significativas (32-38).

Discussion

The discussion is organized into three sections, as follows: (i) studies reporting effective pharmacists' interventions; (ii) studies not reporting effective pharmacists' interventions in relation to patients' adherence to antibiotics, (iii) limitations, and (iv) practical implications for the pharmacists' future practice. Overall, the variables with impact on patient adherence to antibiotics, which depend on patient-pharmacist interactions, treatment characteristics and patient knowledge were more easily modified or adjusted (13).

Studies reporting effective pharmacists' interventions

Effective interventions were based on diverse strategies/methodologies by the community or hospital pharmacist, such as the use of a checklist to support a pharmacist-structured intervention followed by follow-up phone calls to reinforce patient recommendations (7); provision of written information/leaflets plus pharmacist advice (21); use of a marked syringe to correctly dosage liquid forms of antibiotics (20) as well as dispensation of personalized doses of antibiotics (e.g., dispensation of the exact number of tablets or volume of a syrup necessary to complete the treatment) (23).

Structured pharmaceutical consultations/interventions resulting in improved patient adherence are also documented in other studies and clinical settings (e.g., treatment of asthma or diabetes, including with the involvement of other healthcare professionals, such as doctors) (8,39). These structured pharmaceutical consultations/interventions can be supported by the use of checklists (or other documents) to guide pharmacists' interventions. Besides the call-back method, SMS reminders and real-time monitoring improved patient adherence to other therapies (e.g., antiretroviral therapy), which was related to increased patient awareness as well as emotional and moral reinforcement (40). Thus, hospital and community pharmacists may apply call-back methodologies and/or SMS reminders to check and support patient adherence to antibiotics (or other medicines) in routine daily practice.

Discussão

A discussão está organizada em três seções: (i) estudos que reportam intervenções eficazes dos farmacêuticos; (ii) estudos que não reportam intervenções eficazes dos farmacêuticos em relação à adesão dos doentes aos antibióticos, (iii) limitações e (iv) implicações práticas para a atividade dos farmacêuticos de futuro. Globalmente, as variáveis com impacto na adesão do doente aos antibióticos, que foram mais facilmente modificadas ou ajustadas, dependem das interações doente-farmacêutico, das características do tratamento e dos conhecimentos do doente (13).

Estudos que reportam intervenções eficazes dos farmacêuticos

Intervenções eficazes basearam-se em diversas estratégias/metodologias do farmacêutico comunitário ou hospitalar, tais como a utilização de uma lista de verificação para apoiar uma intervenção farmacêutica estruturada, seguida de chamadas telefónicas de acompanhamento para reforçar as recomendações aos doentes (7); provisão de informações/folhetos escritos e orientação farmacêutica (21); utilização de uma seringa marcada para dosear corretamente formas líquidas de antibióticos (20), bem como dispensa de doses personalizadas de antibióticos (por exemplo, a dispensa do número exato de comprimidos ou o doseamento do volume de xarope necessários para completar o tratamento) (23).

Consultas/intervenções farmacêuticas estruturadas, resultaram em melhor adesão do doente, também estão documentadas em outros estudos e/ou ambientes clínicos (por exemplo, tratamento de asma ou diabetes, incluindo com o envolvimento de outros profissionais de saúde como médicos) (8,39). Estas consultas/intervenções farmacêuticas estruturadas também parecem ser suportadas pela utilização de listas de verificação (ou outros documentos) para orientar as intervenções farmacêuticas. Além do método de retorno de chamadas telefónicas, os lembretes por SMS com monitorização em tempo real melhoram a adesão do doente a outras terapias (por exemplo, terapia antirretroviral), o que foi relacionado com o aumento da consciencialização do doente, bem como com o seu fortalecimento emocional e moral (40). Assim, as metodologias de retorno de chamadas telefónicas e/ou lembretes por SMS podem ser aplicadas pelos farmacêuticos hospitalares e comunitários para verificar e apoiar a adesão dos doentes aos antibióticos (ou outros medicamentos) na prática diária de rotina.

Particularly, patient adherence to liquid pharmaceutical forms (e.g., pediatric syrups of antibiotics) was improved with the simultaneous dispensation of a syringe with a line marked to measure the correct dose as well as the respective demonstration on how to use this syringe to ensure a correct/precise dosing (20). Although the majority of pediatric syrups are already dispensed with dosing devices, the correct demonstration of how to use these dose devices should not be overlooked. Personalized doses, such as the dispensation of the precise quantity of antibiotic tablets or syrup, which are necessary to fulfill the treatment, seem to be an appropriate methodology to improve patient adherence, reduce antibiotic/medicine wastes, and improve the feeling of safety of patients and their trust in healthcare professionals (23,41).

Additionally, the administration of visual aids (24), written information/package inserts (30,31), reinforced education and/or more intensive counselling (4,26-29) improved patient compliance rates and/or clinical outcomes, with statistical significance. The use of visual aid/pictograms by pharmacists promoted better patient adherence to chronic treatments. Visual aids improved the knowledge and recall of drug-related information as well as outlined better medication adherence outcomes (42). Text messages, such as package inserts of medicines or SMS reminders must be clearly and intelligibly written to be correctly understood by patients (40,43). For instance, improved patient adherence to antibiotic treatment (e.g., acute sore throat) was also achieved with the administration of written information plus verbal instructions by other healthcare professionals, such as general practitioners (44), which seems to corroborate the use of written information during the dispensation of antibiotics in community or hospital pharmacies.

Illiterate or low literacy patients also significantly improved adherence to antibiotics as a consequence of pharmacist counselling. It should be noted that patients with a low level of literacy are more likely to have a less favorable state of health, higher rates of hospitalization and medical expenses and more medication errors, such as less adherence to treatment (24,25). Finally, patients under complex treatments, such as *H. pylori*, also significantly improved adherence to antibiotics (25) as a

Em particular, a adesão dos doentes às formas farmacêuticas líquidas (por exemplo, xaropes pediátricos de antibióticos) foi melhorada com a dispensa simultânea de uma seringa com uma linha marcada para medir a dose correta, a par da demonstração da utilização da dita seringa para garantir uma dosagem correta/precisa (20). Ainda que, a maioria dos xaropes pediátricos já sejam dispensados com dispositivos de dosagem, a correta demonstração da utilização destes dispositivos não deve ser omitida. Doses personalizadas, como por exemplo, a dispensa da quantidade precisa de comprimidos ou xaropes de antibióticos necessários para cumprir o tratamento, parecem ser uma metodologia adequada para melhorar a adesão dos doentes, reduzir o desperdício de antibióticos/medicamentos, bem como melhorar a sensação de segurança dos doentes e da sua confiança nos profissionais de saúde (23,41).

Além disso, a administração de recursos visuais (24), informações escritas/folhetos informativos (30,31), educação reforçada e/ou aconselhamento mais intensivo (4,26-29) melhoraram as taxas de adesão do doente e/ou os resultados clínicos, com significância estatística. A utilização de recursos visuais/pictogramas pelos farmacêuticos promoveu uma melhor adesão dos doentes aos tratamentos crónicos. O auxílio visual melhorou o conhecimento e a memorização de informações relacionadas aos medicamentos, bem como uma melhor adesão à medicação (42). Mensagens de texto, como folhetos de medicamentos ou lembretes por SMS, devem ser escritas de forma clara e inteligível para serem corretamente compreendidas pelos doentes (40,43). Por exemplo, a melhoria da adesão do doente ao tratamento com antibióticos (e.g., dor de garganta aguda) também foi alcançada com a administração de informações escritas, além de instruções verbais de outros profissionais de saúde, como médicos de clínica geral (44), o que parece corroborar o uso de informações escritas durante a dispensa de antibióticos em farmácias comunitárias ou hospitalares.

Doentes de baixa literacia também melhoraram significativamente a adesão aos antibióticos como consequência do aconselhamento farmacêutico. De notar, que os doentes com baixo nível de literacia têm uma maior probabilidade de um estado de saúde menos favorável, de taxas de hospitalização e despesas médicas superiores e de cometer mais erros de medicação, como por exemplo, uma menor adesão aos tratamentos (24,25). Finalmente, doentes sob tratamentos complexos, como *H. pylori*, também melhoraram significativamente a

consequence of pharmacist-detailed counselling, which may be explained by improved patient memorization and understanding of complex treatments and consequently better adherence to medication. Thus, these patients should be identified, and pharmacists' counseling about medication/therapy should be reinforced and tailored to their individual needs (45).

Studies not reporting effective interventions

Overall, statistically significant results were not achieved in one third of the selected studies/trials (7 out of 21 trials) (27,33-38). These findings may be explained because the routine care may not have been equally applied in all the studies (trials). For instance, not all the studies described the detailed meaning of "usual or routine care". Additionally, the applied methodologies to assess the adherence of patients were not equal or were not equally applied. Some studies exclusively applied self-reporting, and other studies applied mixed methods, such as self-reporting plus pill count, which is likely to be more accurate and could explain different outcomes. Thus, it was not possible to conduct an accurate comparison between different studies. It is important to notice that the conveniently selected studies applied distinct protocols or different methodologies (methodologies were similar in some cases, but not equal), and, in general, the protocols of studies (trials) were incompletely reported.

It is important to note that better quantitative results were obtained in the intervention than in the control groups in these studies, which seems to substantiate the benefit of a reinforced pharmaceutical intervention (e.g., oral plus written information and/or the provision of more detailed verbal instructions) to improve patient adherence to antibiotics. A previous review and meta-analysis from Lamber et al. (2022) related to the present topic found that "adherence to antibiotics did not significantly increase after pharmacist-led interventions" (findings from only nine studies, which were also included in the present analysis) (16). However, the findings of the present work (analysis of 21 controlled studies) seem to support a more favorable patient adherence to antibiotics as a consequence of pharmacist intervention in comparison to the findings of Lambert et al. (2022) (16). Therefore, a reinforced pharmacist intervention seems to be recommended when hospital or community pharmacist dispense antibiotics (for short or long-term treatments), since improved patients' adherence (with or without statistical significance) is likely to be attained.

adesão aos antibióticos (25), como consequência do aconselhamento detalhado do farmacêutico, o que pode ser explicado pela melhor memorização e compreensão dos doentes sobre tratamentos complexos e, conseqüentemente, melhor adesão aos medicamentos. Assim, estes doentes devem ser identificados e o aconselhamento pelo farmacêutico sobre os medicamentos/terapêuticas deve ser reforçado e adaptado às suas necessidades individuais (45).

Estudos que não reportam intervenções eficazes dos farmacêuticos

No geral, resultados estatisticamente significativos não foram alcançados em um terço dos estudos/ensaios selecionados (7 de 21 ensaios) (27,33-38). Estes resultados podem ser explicados porque os cuidados de rotina podem não ter sido aplicados igualmente em todos os estudos (ensaios). Por exemplo, nem todos os estudos descreveram o significado detalhado de "cuidados habituais ou de rotina". Além disso, as metodologias aplicadas para avaliar a adesão dos doentes não foram iguais ou não foram aplicadas do mesmo modo. Alguns estudos aplicaram exclusivamente autorrelatos, e outros estudos aplicaram métodos mistos, como o autorrelato mais a contagem de comprimidos, o que provavelmente é mais preciso e pode explicar resultados diferentes. Assim, não é possível realizar uma comparação precisa entre os diferentes estudos. É importante notar que os estudos convenientemente selecionados aplicaram protocolos distintos ou metodologias diferentes (em alguns casos as metodologias eram semelhantes, mas não iguais) e, em geral, os protocolos de estudos (ensaios) foram reportados de forma incompleta.

É importante salientar que nos estudos selecionados foram obtidos melhores resultados quantitativos na intervenção do que nos grupos de controle, o que parece evidenciar o benefício de uma intervenção farmacêutica reforçada (por exemplo, utilização de informação oral mais escrita e/ou a disponibilização de instruções verbais mais detalhadas) para melhorar a adesão do doente ao tratamento com antibióticos. Um estudo de revisão e meta-análise de Lambert et al. (2022) relacionado com o presente tópico concluiu que "a adesão aos antibióticos não aumentou significativamente após intervenções lideradas por farmacêuticos" (resultados de apenas nove dos dezassete estudos selecionados que também foram incluídos na presente análise) (16). No entanto, os resultados do presente estudo (análise de 21 estudos controlados) parecem apoiar uma adesão mais favorável dos doentes aos antibióticos,

como consequência da intervenção farmacêutica comparativamente aos resultados de Lambert et al. (2022) (16). Portanto, uma intervenção farmacêutica reforçada parece ser recomendada quando o farmacêutico hospitalar ou comunitário dispensa antibióticos (para tratamentos de curto ou longo prazo), uma vez que é provável que seja alcançada uma melhor adesão dos doentes (com ou sem significância estatística).

Limitations

As it is a descriptive study, the present study only identified potentially relevant pharmacist interventions to improve patient antibiotic adherence. It is important to note that a p-value is used to evaluate the statistical significance of the results of a certain study, which cannot be used as an independent or dependent variable in a subsequent analysis between different studies. Thus, the findings reported in the present descriptive study must be interpreted within the scope of each one of the analyzed studies (4,7,8,20-38).

Practical implications for the pharmacists' future practice

Considering that statistically significant results were not achieved in all the analyzed studies, the impact of pharmacist intervention should be supervised in the routine or actual practice, such as via phone calls after antibiotic initiation and at the end of the therapy. The existing national and international guidelines about the dispensation of antibiotics at community or hospital pharmacy (e.g., Guidelines for the Prudent Use of Antimicrobials in Human Health) (11) can be updated and/or optimized. Preferably, updating such guidelines should involve patient groups, such as interviews, questionnaires and focus groups, since patients seem to benefit from pharmacists' interventions that are more intensive/detailed and/or comprise multiple methodologies to improve patient adherence to antibiotics. Updated guidelines should resolve diverse issues related to patient adherence to antibiotics, such as the assessment of the adherence problem, the identification of predisposing factors, the provision of comprehensive counseling, dosage regime and/or the recommendation of specific adherence strategies based on patient's individual needs (46,47). Additionally, package inserts of medicines and/or

Limitações

O presente estudo identificou apenas intervenções farmacêuticas potencialmente relevantes para melhorar a adesão dos doentes aos antibióticos, por se tratar de um estudo descritivo. É importante notar que um valor p é utilizado para avaliar a significância estatística dos resultados de um determinado estudo, que não pode ser utilizado como variável independente ou dependente em uma análise posterior entre diferentes estudos. Assim, os resultados reportados no presente estudo descritivo devem ser interpretados no âmbito de cada um dos estudos analisados (4,7,8,20-38).

Implicações práticas para a atividade dos farmacêuticos de futuro

Considerando que não foram alcançados resultados estatisticamente significativos em todos os estudos analisados, o impacto da intervenção farmacêutica deve ser supervisionado na rotina/prática real, como por exemplo, através de chamadas telefônicas após o início da toma do antibiótico, bem como no final da terapêutica. As atuais diretrizes nacionais e internacionais mais detalhadas sobre a dispensa de antibióticos em farmácias comunitárias ou hospitalares (e.g. Guidelines for the Prudent Use of Antimicrobials in Human Health) (11) podem ser atualizadas ou melhoradas. Preferencialmente, a atualização de tais diretrizes deve envolver grupos de doentes, como por exemplo, entrevistas, questionários e grupos focais, uma vez que os doentes parecem beneficiar das intervenções dos farmacêuticos mais intensivas/detalhadas e/ou que compreendam múltiplas metodologias para melhorar adesão dos doentes aos antibióticos. As diretrizes atualizadas devem responder a diversas questões relacionadas com a adesão dos doentes aos antibióticos, tais como a avaliação dos problemas de adesão, a identificação de fatores predisponentes, a prestação de aconselhamento abrangente, o regime posológico e/ou a recomendação de estratégias de adesão específicas com base nas necessidades individuais dos doentes (46,47). Além disso, os folhetos dos medicamentos e/ou as informações

written information should be tailored according to patients' literacy level and age, since these documents are perceived as a valuable resource for appropriate medication adherence (48).

There are few studies on the present topic, i.e., the impact of pharmacists' interventions on patient adherence to antibiotics at community or hospital pharmacy. Future research on the present topic must be exhaustively described to be reproducible, including full and detailed descriptions of routine care, preferably more than one methodology to assess patient adherence should be applied (e.g., self-reporting, and intermediate and final visits to conduct pill count), and the study design must be adequate. For example, it must comply with the requisites of the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) tool, including the description and adequacy of the method of randomization or calculation of sample size, adherence to intervention protocols or the description of drop-out rate of participants (49) to ensure the quality of the developed research. Additionally, the applied methodologies should be described in detail, preferably in a previously published protocol. Along with controlled trials, the development of qualitative studies in social pharmacy on the present topic are highly recommended. Modifiable variables, such as variables that depend on patient-health professional interactions, treatment characteristics, and knowledge (13) should be taken into consideration in the design of future research.

Additional studies about patient adherence to antibiotics are also recommended in subgroups of patients such as older adults, pregnant women, chronic patients, and pediatric patients, or to compare the pharmaceutical interventions on patient adherence to antibiotics between developed and developing countries. Finally, the impact of technologies on patient adherence to antibiotics can also be assessed in future research. For example, the following technologies and/or methodologies may be applied:

1. Mobile Health Apps (e.g., reminders and notifications; adherence tracking; or educational content) (50);

escritas devem ser adaptadas de acordo com o nível de literacia e a idade dos doentes, uma vez que esses documentos são compreendidos como um recurso valioso para uma adesão adequada à medicação (48).

Existem poucos estudos sobre o presente tema, i.e., o impacto das intervenções dos farmacêuticos na adesão dos doentes aos antibióticos na farmácia comunitária ou hospitalar. Pesquisas futuras sobre o presente tópico devem ser exhaustivamente descritas para serem reprodutíveis, como por exemplo, utilizando uma descrição completa e detalhada dos cuidados de rotina, preferencialmente mais de uma metodologia para avaliar a adesão do doente deve ser aplicada (por exemplo, autorrelato e visitas intermediárias e finais para realizar a contagem de comprimidos) e o desenho do estudo deve ser adequado. Por exemplo, deve obedecer aos requisitos da ferramenta do National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI), nomeadamente, descrição e adequação do método de randomização ou cálculo do tamanho da amostra, adesão a protocolos de intervenção ou descrição de taxa de desistência dos participantes (49) para garantir a qualidade da pesquisa desenvolvida. Além disso, as metodologias aplicadas devem ser descritas detalhadamente, preferencialmente num protocolo previamente publicado. O desenvolvimento de estudos de farmácia social/qualitativos sobre o presente tópico é muito recomendado, além da concretização de ensaios controlados. Variáveis modificáveis, como as variáveis que dependem das interações doente-profissional de saúde, características do tratamento e conhecimento (13) devem ser levadas em consideração no desenho de pesquisas futuras.

Estudos adicionais sobre a adesão dos doentes aos antibióticos também são recomendados em subgrupos de doentes como idosos, grávidas, doentes crónicos, doentes pediátricos ou para comparar as intervenções farmacêuticas na adesão dos doentes aos antibióticos entre países desenvolvidos e em desenvolvimento. Finalmente, o impacto das tecnologias na adesão dos doentes aos antibióticos também pode vir a ser avaliada em pesquisas futuras. Por exemplo, as seguintes tecnologias e/ou metodologias podem vir a ser aplicadas:

1. Aplicativos móveis de saúde (por exemplo, lembretes e notificações; monitorização da adesão; ou conteúdo educacional) (50);

2. Smart Pill Bottles and Dispensers (e.g., electronic reminders or monitoring and reporting) (51);
 3. Telemedicine and Telepharmacy (e.g., virtual consultations or medication Management) (52);
 4. Wearable Devices, such as smartwatches (e.g., medication reminders and health monitoring) (53);
 5. Interactive Voice Response (IVR) Systems (e.g., automated calls and feedback and support) (54);
 6. Text Messaging Services (e.g., SMS Reminders and two-way communication) (40);
 7. Electronic Health Records (EHR) Integration (e.g., automated alerts and adherence monitoring) (55);
 8. Gamification (e.g., engagement, motivation and behaviour change of patients) (56).
2. Frascos e dispensadores de comprimidos inteligentes (por exemplo, lembretes eletrônicos ou monitorização e relatórios) (51);
 3. Telemedicina e Telefarmácia (ex. consultas virtuais ou gestão de medicamentos) (52);
 4. Wearable Devices, como smartwatches (por exemplo, lembretes de medicamentos e monitorização da saúde) (53);
 5. Sistemas interativos de resposta de voz (IRV) (por exemplo, chamadas automáticas, feedback e suporte) (54);
 6. Serviços de mensagens de texto (por exemplo, lembretes por SMS e comunicação bidirecional) (40);
 7. Integração de Registos Eletrónicos de Saúde (RES) (por exemplo, alertas automáticos e monitorização da adesão) (55);
 8. Gamificação (por exemplo, com o envolvimento, motivação e mudança de comportamento dos doentes) (56).

Conclusion

Interventions of hospital and community pharmacists can significantly improve the adherence of patients to antibiotics through a reinforced pharmaceutical intervention, according to some of analyzed studies. Pharmaceutical interventions can be reinforced through additional measures, such as intense education and/or counselling, the application of a model to support/orientate pharmacist intervention, follow-up phone call(s), the use of visual aids/pictograms, the dispensation of a clear and readable leaflet or written information in association (or not) with verbal instructions, and/or the dispensation of individual/personalized doses of antibiotics (tablets or syrups).

Reinforced and detailed counselling by pharmacists seems to be especially relevant in the case of multiple doses regimens or complex therapies, such as *H. pylori* treatment and/or in the case of patients with low literacy. Overall, the simultaneous use/administration of multiple interventions by community or hospital pharmacists seems to be more likely to produce effective improvements in patients' adherence to antibiotics in the analyzed

Conclusões

As intervenções dos farmacêuticos hospitalares e comunitários podem melhorar significativamente a adesão dos doentes aos antibióticos através de uma intervenção farmacêutica reforçada de acordo com alguns dos estudos analisados. As intervenções farmacêuticas podem ser reforçadas através de medidas adicionais, como por exemplo aconselhamento, aplicação de um modelo para apoiar/orientar a intervenção farmacêutica (e.g., utilização de uma checklist), telefonema(s) de acompanhamento para apoiar as recomendações, o uso de recursos visuais/pictogramas e/ou a dispensa de um folheto ou informação escrita clara e legível sobre como usar corretamente o antibiótico em associação (ou não) com instruções verbais, e/ou dispensa de doses individuais/personalizadas de antibióticos (comprimidos ou xaropes).

Este aconselhamento reforçado e detalhado por parte dos farmacêuticos parece ser especialmente relevante quando os antibióticos são dispensados simultaneamente com outros medicamentos ou no caso terapias complexas, como o tratamento do *H. pylori* e/ou no caso de doentes de baixa literacia. No geral, a utilização/administração simultânea de múltiplas intervenções por farmacêuticos comunitários ou hospitalares parece ter maior probabilidade de produzir melhorias efetivas na

controlled studies. Finally, variables that depend on patient-pharmacist communication interactions, treatment characteristics, and patients' knowledge seem to be more easily modifiable or adaptable in the analyzed studies.

Authors Contributions Statement

This work was fully conducted by CP.

Funding

None.

Acknowledgements

The author acknowledges CBIOS - Research Center for Biosciences and Health Technologies, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisbon, Portugal.

Conflict of Interests

The author declares there are no financial and/or personal relationships that could present a potential conflict of interests.

adesão dos doentes aos antibióticos nos estudos controlados em análise. Por último, variáveis que dependem das interações de comunicação doente-farmacêutico, características do tratamento e conhecimento do doente, parecem ter sido mais facilmente modificáveis ou adaptáveis nos estudos analisados.

Declaração sobre as contribuições do autor

Este trabalho foi totalmente concretizado por CP.

Financiamento

Nenhum.

Agradecimentos

A autora expressa os seus agradecimentos a CBIOS - Research Center for Biosciences and Health Technologies, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, Portugal.

Conflito de Interesses

A autora declara que não há relações financeiras e/ou pessoais que possam representar um potencial conflito de interesses (ou o que for aplicável).

References / Referências

- Vrijens, B., & Urquhart, J. (2005). Patient adherence to prescribed antimicrobial drug dosing regimens. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 55(5), 616–627. <https://doi.org/10.1093/jac/dki066>
- Al-Hassany, L., Kloosterboer, S. M., Dierckx, B., & Koch, B. C. (2019). Assessing methods of measuring medication adherence in chronically ill children—a narrative review. *Patient preference and adherence*, 13, 1175–1189. <https://doi.org/10.2147/PPA.S200058>
- Anghel, L. A., Farcas, A. M., & Oprean, R. N. (2019). An overview of the common methods used to measure treatment adherence. *Medicine and pharmacy reports*, 92(2), 117–122. <https://doi.org/10.15386/mpr-1201>
- de Souza, E. V., Vieira, L. J. S. C., Dos Santos, S. N. P., Cerqueira-Santos, S., Rocha, K. S. S., & de Lyra, D. P., Jr (2022). Antimicrobial dispensing process in community pharmacies: a scoping review. *Antimicrobial resistance and infection control*, 11(1), 116. <https://doi.org/10.1186/s13756-022-01157-0>
- Huang, Y. M., Wang, Y. H., Chan, H. Y., & Ho, Y. F. (2023). A Qualitative Approach to Exploring Workflow and Cost Factors of Dispensing Services in Community Pharmacies in Taiwan. *Journal of multidisciplinary healthcare*, 16, 3179–3188. <https://doi.org/10.2147/JMDH.S432828>
- Abdu-Aguye, S. N., Labaran, K. S., Danjuma, N. M., & Mohammed, S. (2021). Hospital pharmacy outpatient medication dispensing and counselling practices in North-Western Nigeria: an observational study. *The International journal of pharmacy practice*, 29(5), 480–485. <https://doi.org/10.1093/ijpp/riab052>
- Widowati, A.R., Pradnyaparamita, D.D., Budayanti, N.S., Diantini, A., Januraga, P.P. (2022). Modified pharmacy counseling improves outpatient short-term antibiotic compliance in Bali Province. *V. International Journal of Public Health Science (IJPHS)*, 11 (3), 1102-1111. <https://doi.org/10.11591/ijphs.v11i3.21537>
- Abrahamsen, B., Burghle, A. H., & Rossing, C. (2020). Pharmaceutical care services available in Danish community pharmacies. *International journal of clinical pharmacy*, 42(2), 315–320. <https://doi.org/10.1007/s11096-020-00985-7>
- de Souza, E. V., Vieira, L. J. S. C., Dos Santos, S. N. P., Cerqueira-Santos, S., Rocha, K. S. S., & de Lyra, D. P., Jr (2022). Antimicrobial dispensing process in community pharmacies: a scoping review. *Antimicrobial resistance and infection control*, 11(1), 116. <https://doi.org/10.1186/s13756-022-01157-0>
- Lambert, M., Benkó, R., Chalkidou, A., Lykkegaard, J., Hansen, M. P., Llor, C., Touboul, P., Trečiokienė, I., Karkana, M. N., Kowalczyk, A., & Taxis, K. (2022). Developing a Tool for Auditing the Quality of Antibiotic Dispensing in Community Pharmacies: A Pilot Study. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(11), 1529. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111529>
- European Centre for Disease Prevention and Control EU. (2017). Guidelines for the Prudent Use of Antimicrobials in Human Health; ECDC: Stockholm, Sweden, 2017. [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52017XC0701\(01\)&from=ET](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52017XC0701(01)&from=ET) (accessed 13-5-2024).
- Endashaw Hareru, H., Sisay, D., Kassaw, C., & Kassa, R. (2022). Antibiotics non-adherence and its associated factors among households in southern Ethiopia. *SAGE open medicine*, 10, 20503121221090472. <https://doi.org/10.1177/20503121221090472>
- Zanichelli, V., Tebano, G., Gyssens, I. C., Vlahović-Palčevski, V., Monnier, A. A., Stanic Benic, M., Harbarth, S., Hulscher, M., Pulcini, C., & Huttner, B. D. (2019). Patient-related determinants of antibiotic use: a systematic review. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 25(1), 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.04.031>
- Algammal, A., Hetta, H. F., Mabrok, M., & Behzadi, P. (2023). Editorial: Emerging multidrug-resistant bacterial pathogens "superbugs": A rising public health threat. *Frontiers in microbiology*, 14, 1135614. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1135614>
- CDC. (2019). 2019 AR Threats Report. <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html#u-threats>. (accessed 13-5-2024).3
- Lambert, M., Smit, C. C. H., De Vos, S., Benko, R., Llor, C., Paget, W. J., Briant, K., Pont, L., Van Dijk, L., & Taxis, K. (2022). A systematic literature review and meta-analysis of community pharmacist-led interventions to optimise the use of antibiotics. *British journal of clinical pharmacology*, 88(6), 2617–2641. <https://doi.org/10.1111/bcp.15254>
- PRISMA. (2024). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) checklist and flow diagram.: <http://prisma.statement.org/prismastatement/flowdiagram.aspx> (accessed 25-2-2024).
- Pires, C. (2023). Impact of controlled pharmacists' interventions on patient adherence to antibiotics: a protocol of a systematic review. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 20(1), 136-149. <https://doi.org/10.19277/bbr.20.1.314>
- Pires, C. (2023). Impact of controlled pharmaceutical communication-based interventions on patient adherence to antibiotics: a systematic review. Registered project in OSF Registries. <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/D7FEU>
- McMahon, S. R., Rimsza, M. E., & Bay, R. C. (1997). Parents can dose liquid medication accurately. *Pediatrics*, 100(3 Pt 1), 330–333. <https://doi.org/10.1542/peds.100.3.330>
- West, L. M., & Cordina, M. (2019). Educational intervention to enhance adherence to short-term use of antibiotics. *Research in social & administrative pharmacy : RSAP*, 15(2), 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.sapharm.2018.04.011>
- Al-Eidan, F. A., McElroy, J. C., Scott, M. G., & McConnell, J. B. (2002). Management of *Helicobacter pylori* eradication—the influence of structured counselling and follow-up. *British journal of clinical pharmacology*, 53(2), 163–171. <https://doi.org/10.1046/j.0306-5251.2001.01531.x>
- Treibich, C., Lescher, S., Sagaon-Teyssier, L., & Ventelou, B. (2017). The expected and unexpected benefits of dispensing the exact number of pills. *PloS one*, 12(9), e0184420. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184420>
- Ngoh, L. N., & Shepherd, M. D. (1997). Design, development, and evaluation of visual aids for communicating prescription drug instructions to nonliterate patients in rural Cameroon. *Patient education and counseling*, 31(3), 245–261. [https://doi.org/10.1016/s0738-3991\(97\)89866-7](https://doi.org/10.1016/s0738-3991(97)89866-7)
- Shoib, A. A., Alsarhan, A., & Khashroum, A. O. (2023). Effect of pharmacist counseling on patient medication compliance and *helicobacter pylori* eradication among Jordanian outpatients. *Arquivos de gastroenterologia*, 60(1), 74–83. <https://doi.org/10.1590/S0004-2803.202301000-10>
- Marque, P., Le Moal, G., Labarre, C., Delrieu, J., Pries, P., Dupuis, A., Binson, G., & Lazaro, P. (2023). Assessment of the impact of pharmacist-led intervention with antibiotics in patients with bone and joint infection. *Infectious diseases now*, 53(6), 104671. <https://doi.org/10.1016/j.idnow.2023.104671>
- Paravattil, B., Zolezzi, M., Nasr, Z., Benkhadra, M., Alasmar, M., Hussein, S., & Maklad, A. (2021). An Interventional Call-Back Service to Improve Appropriate Use of Antibiotics in Community Pharmacies. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(8), 986. <https://doi.org/10.3390/antibiotics1008098>

28. Muñoz, E. B., Dorado, M. F., Guerrero, J. E., & Martínez, F. M. (2014). The effect of an educational intervention to improve patient antibiotic adherence during dispensing in a community pharmacy. *Atencion primaria, 46*(7), 367–375. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2013.12.003>
29. Ormeci, M., Macit, C., Kocaagaoglu, O., et al. (2015). DI-007 Assessment of the effect of patient education on compliance with antibiotic treatment in ambulatory patients. *European Journal of Hospital Pharmacy, 22*, A77-A78
30. González, M.M., Espejo, J.S., Gutiérrez, L., Machuca, M.P., & Herrera, J. (2003). The effect of written information provided by pharmacists on compliance with antibiotherapy. *Ars Pharmaceutica, 44*(2), 141-157.
31. Gotsch, A. R., & Liguori, S. (1982). Knowledge, attitude, and compliance dimensions of antibiotic therapy with PPIs: A community pharmacy-based study. *Medical care, 20*(6), 581–595. <https://doi.org/10.1097/00005650-198206000-00004>
32. Stevens, V. J., Shneidman, R. J., Johnson, R. E., Boles, M., Steele, P. E., & Lee, N. L. (2002). Helicobacter pylori eradication in dyspeptic primary care patients: a randomized controlled trial of a pharmacy intervention. *The Western journal of medicine, 176*(2), 92–96.
33. Beaucage, K., Lachance-Demers, H., Ngo, T. T., Vachon, C., Lamarre, D., Guévin, J. F., Martineau, A., Desroches, D., Brassard, J., & Lalonde, L. (2006). Telephone follow-up of patients receiving antibiotic prescriptions from community pharmacies. *American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists, 63*(6), 557–563. <https://doi.org/10.2146/ajhp050177>
34. Eyler, R., Shvets, K., & Blakely, M. L. (2016). Motivational Interviewing to Increase Postdischarge Antibiotic Adherence in Older Adults with Pneumonia. *The Consultant pharmacist : the journal of the American Society of Consultant Pharmacists, 31*(1), 38–43. <https://doi.org/10.4140/TCP.n.2016.38>
35. Pham, J. A., Pierce, W., & Muhlbaier, L. (2013). A randomized, controlled study of an educational intervention to improve recall of auxiliary medication labeling and adherence to antibiotics. *SAGE open medicine, 1*, 2050312113490420. <https://doi.org/10.1177/2050312113490420>
36. Göktaş, N.B. (2013). The role of patient education in adherence to antibiotic therapy in primary care. *Marmara Pharmaceutical Journal, 17*, 113-119.
37. Merks, P., Świeczkowski, D., Balcerzak, M., Drelich, E., Białoszewska, K., Cwalina, N., Zdanowski, S., Krysiński, J., Gromadzka, G., & Jaguszewski, M. (2019). Patients' Perspective And Usefulness Of Pictograms In Short-Term Antibiotic Therapy - Multicenter, Randomized Trial. *Patient preference and adherence, 13*, 1667–1676. <https://doi.org/10.2147/PPA.S214419>
38. Jackson, C., Lawton, R. J., Raynor, D. K., Knapp, P., Conner, M. T., Lowe, C. J., & Closs, S. J. (2006). Promoting adherence to antibiotics: a test of implementation intentions. *Patient education and counseling, 61*(2), 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.pec.2005.03.010>
39. Filotheidou, A., Theodosios-Nobelos, P., & Triantis, C. (2023). Role of pharmaceutical care in therapeutic regimens within the community pharmacy. Role farmaceutické péče v léčebných schématech ve veřejné lékárně. *Ceska a Slovenska farmacie : casopis Ceske farmaceuticke spolecnosti a Slovenske farmaceuticke spolecnosti, 72*(2), 70–78.
40. Ware, N. C., Pisarski, E. E., Tam, M., Wyatt, M. A., Atukunda, E., Musiimenta, A., Bangsberg, D. R., & Haberer, J. E. (2016). The Meanings in the messages: how SMS reminders and real-time adherence monitoring improve antiretroviral therapy adherence in rural Uganda. *AIDS (London, England), 30*(8), 1287–1294. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001035>
41. Boeni, F., Hersberger, K. E., & Arnet, I. (2014). Multidrug punch cards in primary care: a mixed methods study on patients' preferences and impact on adherence. *Frontiers in pharmacology, 5*, 220. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00220>
42. Merks, P., Cameron, J., Bilmin, K., Świeczkowski, D., Chmielewska-Ignatowicz, T., Hareźlak, T., Białoszewska, K., Sola, K. F., Jaguszewski, M. J., & Vaillancourt, R. (2021). Medication Adherence and the Role of Pictograms in Medication Counselling of Chronic Patients: a Review. *Frontiers in pharmacology, 12*, 582200. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.582200>
43. Pires, C., Vigário, M., & Cavaco, A. (2015). Readability of medicinal package leaflets: a systematic review. *Revista de saude publica, 49*, 4. <https://doi.org/10.1590/s0034-8910.2015049005559>
44. Segador, J., Gil-Guillen, V. F., Orozco, D., Quirce, F., Carratalá, M. C., Fernández-Parker, A., & Merino, J. (2005). The effect of written information on adherence to antibiotic treatment in acute sore throat. *International journal of antimicrobial agents, 26*(1), 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.03.009>
45. Ngoh, L. N. (2009). Health literacy: a barrier to pharmacist-patient communication and medication adherence. *Journal of the American Pharmacists Association : JAPhA, 49*(5), e132–e149. <https://doi.org/10.1331/JAPhA.2009.07075>
46. Coleman, C. I., Limone, B., Sobieraj, D. M., Lee, S., Roberts, M. S., Kaur, R., & Alam, T. (2012). Dosing frequency and medication adherence in chronic disease. *Journal of managed care pharmacy : JMCP, 18*(7), 527–539. <https://doi.org/10.18553/jmcp.2012.18.7.527>
47. Nichols-English, G., & Poirier, S. (2000). Optimizing adherence to pharmaceutical care plans. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Washington, D.C. : 1996), 40*(4), 475–485.
48. Al Jeraisy, M., Alshammari, H., Albassam, M., Al Aamer, K., & Abolfotouh, M. A. (2023). Utility of patient information leaflet and perceived impact of its use on medication adherence. *BMC public health, 23*(1), 488. <https://doi.org/10.1186/s12889-023-15346-y>
49. The National Heart, Lung, and Blood institute (NHLBI). Quality assessment tool for Quality Assessment of Controlled Intervention Studies. Available from < <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/study-quality-assessment-tools> > (accessed 13-5-2024).
50. Peng, Y., Wang, H., Fang, Q., Xie, L., Shu, L., Sun, W., & Liu, Q. (2020). Effectiveness of Mobile Applications on Medication Adherence in Adults with Chronic Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of managed care & specialty pharmacy, 26*(4), 550–561. <https://doi.org/10.18553/jmcp.2020.26.4.550>
51. Gargioni, L., Fogli, D., & Baroni, P. (2024). A Systematic Review on Pill and Medication Dispensers from a Human-Centered Perspective. *Journal of healthcare informatics research, 8*(2), 244–285. <https://doi.org/10.1007/s41666-024-00161-w>
52. Emadi, F., Ghanbarzadegan, A., Ghahramani, S., Bastani, P., & Baysari, M. T. (2022). Factors affecting medication adherence among older adults using tele-pharmacy services: a scoping review. *Archives of public health = Archives belges de sante publique, 80*(1), 199. <https://doi.org/10.1186/s13690-022-00960-w>
53. Marengo, L. L., & Barberato-Filho, S. (2023). Involvement of Human Volunteers in the Development and Evaluation of Wearable Devices Designed to Improve Medication Adherence: A Scoping Review. *Sensors (Basel, Switzerland), 23*(7), 3597. <https://doi.org/10.3390/s23073597>
54. Reidel, K., Tamblyn, R., Patel, V., & Huang, A. (2008). Pilot study of an interactive voice response system to improve medication refill compliance. *BMC medical informatics and decision making, 8*, 46. <https://doi.org/10.1186/1472-6947-8-46>
55. Xu, Y., Zheng, X., Li, Y., Ye, X., Cheng, H., Wang, H., & Lyu, J. (2023). Exploring patient medication adherence and data mining methods in clinical big data: A contemporary review. *Journal of evidence-based medicine, 16*(3), 342–375. <https://doi.org/10.1111/jebm.12548>
56. Tran, S., Smith, L., El-Den, S., & Carter, S. (2022). The Use of Gamification and Incentives in Mobile Health Apps to Improve Medication Adherence: Scoping Review. *JMIR mHealth and uHealth, 10*(2), e30671. <https://doi.org/10.2196/30671>

A Review on Eyelash Extensions: Methods, Safety, and Aesthetic Considerations

Revisão sobre Extensões de Pestanas: Métodos, Segurança e Considerações

Maísa Oliveira de Melo  

Keywords: Eyelash extensions, eye safety, cyanoacrylate, eyelashes, beauty enhancements

Palavras-chave: Extensões de pestanas, segurança ocular, cianoacrilato, pestanas, realces de beleza

To Cite:

Oliveira de Melo, M. (2024) A Review on Eyelash Extensions: Methods, Safety, and Aesthetic Considerations. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 21(1),127-139.

 [10.19277/bbr.21.1.332](https://doi.org/10.19277/bbr.21.1.332)

Cherry Lash Cosméticos, São Paulo, SP, Brazil

Correspondence to / Correspondência a::
maisa_17@hotmail.com

Received / Recebido: 29/02/2024

Accepted / Aceite: 22/04/2024

Abstract

Eyelash extensions have gained popularity as a non-invasive cosmetic procedure, aiming to enhance the length and thickness of natural eyelashes. Despite their widespread use, scientific exploration into the methods, safety considerations, and aesthetic implications of eyelash extensions remains limited. This study conducts a comprehensive literature review to analyze the current state of scientific literature on the eyelash extension industry, identifying gaps for future research.

In this study, there is an emphasis on the importance of adhesive properties, drying time, and safety considerations in the evolution of eyelash extension materials. Safety concerns associated with eyelash extensions side effects exist and legislation for adequate professional training and hygiene standards is needed. Aesthetic considerations delve into cultural and personal preferences, exploring the relationship between lash aesthetics, self-esteem, body image, and social perceptions. In conclusion, as eyelash extensions continue to be a prevalent trend worldwide, there is a necessity for extensive research to inform professionals and clients about potential risks and benefits. Further investigations in safety standards, application techniques, and aesthetic implications will contribute to the advancement of beauty science and the informed decision-making of individuals seeking eyelash enhancements, making the procedure safer and even more popular.

Resumo

As extensões de pestanas ganharam popularidade como um procedimento cosmético não invasivo, com o objetivo de melhorar o comprimento e a espessura das pestanas naturais. Apesar do seu uso generalizado, a exploração científica sobre os métodos, considerações de segurança e implicações estéticas das extensões de pestanas permanece limitada. Este estudo realiza uma revisão abrangente da literatura para analisar o estado atual da literatura científica sobre a indústria de extensões de pestanas, identificando lacunas para futuras pesquisas.

Neste estudo, há ênfase na importância das propriedades adesivas, tempo de secagem e considerações de segurança na evolução dos materiais de extensão de pestanas. Existem preocupações de segurança associadas aos efeitos colaterais das extensões de pestanas, e é necessária legislação para treino profissional adequado e padrões de higiene. Considerações estéticas exploram preferências culturais e pessoais, investigando a relação entre estética das pestanas, autoestima, imagem corporal e percepções sociais. Em conclusão, à medida que as extensões de pestanas continuam a ser uma tendência prevalente em todo o mundo, há uma necessidade de extensa pesquisa para informar profissionais e clientes sobre os potenciais riscos e benefícios. Investigações adicionais em padrões de segurança, técnicas de aplicação e implicações estéticas contribuirão para o avanço da ciência da beleza e a tomada de decisão informada por parte das pessoas que procuram melhorias nas pestanas, tornando o procedimento mais seguro e ainda mais popular.

Introduction

Eyelashes, which are hairs localized on the margins of eyelids, are used to protect the eye from foreign objects like sand, dust, and others (1,2). Eyelashes are shed from the follicle, like other types of hair. Furthermore, to maintain their short length, the eyelash fibres have a briefer hair cycle. The approximated growth rate is 140–50 µm daily. The duration of the anagen and telogen phases is calculated to be 1–4 and 4–9 months, respectively. At all times, 59–85% of eyelash follicles are in the telogen phase, so most eyelashes are always present to maintain their collective protective mechanisms (3,4).

The lash itself is comprised of three structures that fit into each other. The internal structure, called the medulla, consists of loose cells. Around it is a thicker cortex to ensure its strength and stability, along with the pigmentation of either the lash or hair resulting from the melanin in the cortex. Lastly, the cuticle, composed of several cell layers, forms the outermost portion, protecting the internal structures by its impermeability (5,6).

Each eyelash comprises a hair shaft extending from the skin's surface, a root situated beneath the skin, and a bulb at its terminal expanded portion. The lower section of the bulb makes direct contact with the dermal papilla, which possesses a vascular supply, facilitating interactions that contribute to the hair follicle cycle. The eyelash features an inner medulla consisting of cells, a surrounding cortex or medulla that provides rigidity and strength to the eyelash, and an outer concentric layer known as the cuticle. The impermeable cuticle serves to shield the inner components of the eyelash (4,7).

Eyelash extensions are currently trending in the cosmetic industry. They are a non-invasive procedure in which synthetic or natural fibres are attached to natural eyelashes to enhance their length and thickness. We can justify this popularity due to the fact that long eyelashes are considered a sign of femininity in many cultures, and, as a result, there is a search to enhance their eyelash length artificially (8).

Introdução

As pestanas, que são pelos localizados nas margens das pálpebras, são usadas para proteger o olho de objetos estranhos como areia, poeira e outros (1,2). As pestanas são renovadas a partir do folículo, assim como outros tipos de cabelo. Além disso, para manter o seu comprimento curto, as fibras das pestanas têm um ciclo de crescimento mais curto. A taxa de crescimento aproximada é de 140-50 µm diariamente. A duração das fases anágena e telógena é calculada em 1-4 e 4-9 meses, respetivamente. Em todos os momentos, 59-85% dos folículos das pestanas estão na fase telógena, então a maioria das pestanas está sempre presente para manter os seus mecanismos protetores coletivos (3,4).

A estrutura de uma pestana é composta por três partes distintas que se encaixam harmoniosamente. A medula, a parte interna, é formada por células soltas. Em torno dela, há um córtex mais espesso, garantindo força e estabilidade, e contribuindo com a pigmentação resultante da presença de melanina no córtex. Finalmente, a cutícula, composta por várias camadas de células, constitui a parte mais externa, proporcionando impermeabilidade para proteger as estruturas internas (5, 6).

Cada pestana possui um eixo capilar que se estende da superfície da pele, uma raiz situada abaixo da pele e um bulbo em sua porção terminal expandida. A parte inferior do bulbo mantém contato direto com a papila dérmica, rica em suprimento vascular, facilitando interações cruciais que contribuem para o ciclo do folículo capilar. A pestana apresenta uma medula interna composta por células, um córtex ou medula circundante que confere rigidez e resistência à pestana, e uma camada concêntrica externa conhecida como cutícula, desempenhando um papel impermeabilizante essencial (4,7).

Atualmente, as extensões de pestanas emergiram como uma tendência significativa na indústria cosmética. Este procedimento não invasivo envolve a fixação de fibras sintéticas ou naturais nas pestanas naturais para aumentar seu comprimento e espessura. A popularidade desse método pode ser justificada pelo fato de que pestanas longas são frequentemente consideradas um símbolo de feminilidade em diversas culturas, incentivando a busca pelo aumento artificial do comprimento das pestanas (8).

The artificial eyelashes used in the extension procedure are cone-shaped to resemble a natural eyelash. They are applied on a hair-by-hair basis to create a natural look according to the client's specific preferences (9).

This practice has become popular in recent years, with a surge in clients seeking and professionals offering the procedure (10). Scientific exploration into the world of eyelash extensions has been limited. It is important to understand the methods, safety considerations, and aesthetic implications that have already been established in order to develop more innovative studies about this procedure.

Materials and Methods

A comprehensive literature review (i.e., gap analysis) using the online databases Google Scholar (<https://scholar.google.com/>) and PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) was conducted. The purpose was to analyze the state of the art in the scientific literature about the eyelash extension industry and identify where there is a shortage of information, with the objective of progressing in this area. Search terms included eyelash and each of the following: eyelash extension, eyelash, eyelashes, lash extensions, lash, lashes. A total of 19,700 results were found, and review articles, original articles, and expert opinions were pre-selected. The inclusion criteria were articles that studied the eyelash extension procedure and its history, safety, methodology, and aesthetics. The exclusion criteria included studies of natural eyelashes, case reports and articles about artificial eyelashes that are not attached to the natural fiber. After reading the abstracts, 35 articles were selected. The search was conducted in February 2024 and was not limited to English-language papers. No cutoff date was applied.

As pestanas artificiais utilizadas nesse procedimento têm uma forma cônica para imitar a aparência natural. São aplicadas individualmente para criar um visual que se assemelha ao natural, adaptando-se às preferências específicas do cliente (9).

Essa prática tornou-se notavelmente popular nos últimos anos, resultando em um aumento significativo no número de clientes que buscam o procedimento, assim como profissionais que o oferecem (10). Apesar disso, a exploração científica no campo das extensões de pestanas tem sido limitada. Portanto, é importante compreender os métodos, considerações de segurança e implicações estéticas já abordados sobre este procedimento, a fim de desenvolver estudos mais inovadores sobre o tema.

Material e Métodos

Foi realizada uma revisão abrangente da literatura, especificamente uma análise de lacunas, utilizando as bases de dados online Google Scholar (<https://scholar.google.com/>) e PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>). O objetivo foi avaliar o estado atual da literatura científica relacionada à indústria de extensões de pestanas e identificar áreas onde a informação é escassa, com o intuito de avançar no conhecimento desta área. Os termos de pesquisa abrangeram expressões relacionadas com pestanas, tais como pestana, extensão de pestanas, pestanas, extensões de pestanas, pesto, pestos. Foram encontrados um total de 19.700 resultados e foram pré-selecionados artigos de revisão, artigos originais e opiniões de especialistas. Os critérios de inclusão foram artigos que estudaram o procedimento de extensão de pestanas e sua história, segurança, metodologia e aspectos estéticos. Os critérios de exclusão incluíram estudos sobre pestanas naturais e artigos sobre pestanas artificiais que não estão ligadas aos pêlos individuais das pestanas. Após a leitura dos resumos, foram selecionados 35 artigos. A pesquisa foi realizada em fevereiro de 2024 e não se limitou a artigos em inglês. Não foi aplicada uma data limite.

Results and Discussion

Methods of Eyelash Extension Application

The technique of artificially lengthening eyelashes through the attachment of individual hairs was initially patented in 1931 by Marjorie A. Birk in the United States. It was first done with gum arabic adhesive, a solid transparent resin derived from the dried juice of various acacia species (10, 11).

Over several decades, notable developments occurred in the composition of eyelash extension adhesives. In 1974, new technical innovations recommended the use of a latex-based adhesive. Additionally, acrylic resin, specifically polymethyl methacrylate, was sometimes used as an adhesive. These adhesives, composed of acrylic resin, were characterized by their dense consistency, dark coloration, and significant allergenic potential (10,12).

Subsequently, there was a transition from acrylic resin to adhesive formulations containing rubber powder. This transition aimed to improve adhesive properties, making them more adhesive while reducing allergenicity. However, adhesives incorporating rubber powder encountered practical challenges, as the powder tended to settle at the bottom of containers. As a result, users were required to engage in thorough and extended shaking of the adhesive before each application. Another notable drawback of adhesives based on rubber powder was their relatively short shelf life. It is essential to recognize that these historical developments in the adhesive materials used in eyelash extensions have significantly influenced the safety, usability, and shelf stability of the products utilized in this cosmetic practice (10).

In the 21st century, the adhesive landscape in the eyelash extensions community has seen a notable transition towards the utilization of cyanoacrylate-based adhesives. These adhesives have garnered widespread acceptance and are widely regarded as the preeminent choice in terms of quality. Cyanoacrylates, chemical compounds derived from cyanoacrylic acid, serve as the primary constituents of these adhesives, which are renowned for their expeditious bonding properties, not only in the context of eyelash extensions but also in various everyday applications (10,13).

Resultados e Discussão

Métodos de Aplicação de Extensões de Pestanas

A técnica de alongamento artificial de pestanas através da fixação de pelos individuais foi inicialmente patenteada em 1931 por Marjorie A. Birk nos Estados Unidos. Inicialmente, era realizada com a substância adesiva goma arábica, uma resina sólida e transparente derivada do suco seco de várias espécies de acácia (10, 11).

Ao longo de várias décadas, ocorreram desenvolvimentos notáveis na composição dos adesivos para extensão de pestanas. Em 1974, novas inovações técnicas recomendaram o uso de um adesivo à base de látex. Além disso, a resina acrílica, especificamente o polimetil metacrilato, era por vezes utilizada como adesivo. Esses adesivos, compostos por resina acrílica, eram caracterizados pela sua consistência densa, coloração escura e significativo potencial alergénico (10,12).

Posteriormente, houve uma transição da resina acrílica para formulações de adesivos contendo pó de borracha. Essa transição visava melhorar as propriedades adesivas, tornando-as mais aderentes e reduzindo a alergenicidade. No entanto, os adesivos que incorporavam pó de borracha enfrentaram desafios práticos, pois o pó tinha a tendência de se depositar no fundo dos recipientes. Como resultado, os utilizadores eram obrigados a agitar cuidadosa e prolongadamente o adesivo antes de cada aplicação. Uma desvantagem notável dos adesivos à base de pó de borracha era a sua vida útil relativamente curta. É essencial reconhecer que esses desenvolvimentos históricos nos materiais adesivos utilizados em extensões de pestanas influenciaram significativamente a segurança, usabilidade e estabilidade em prateleira dos produtos utilizados nessa prática cosmética (10).

No século XXI, o panorama adesivo na comunidade de extensões de pestanas assistiu a uma transição notável para a utilização de adesivos à base de cianoacrilato. Esses adesivos conquistaram aceitação generalizada e são amplamente considerados a escolha predominante em termos de qualidade. Os cianoacrilatos, compostos químicos derivados do ácido cianoacrilico, servem como os principais constituintes desses adesivos, sendo conhecidos pelas suas propriedades de ligação rápidas, não apenas no contexto de extensões de pestanas, mas também em várias aplicações do dia a dia (10,13).

Characterized by their advanced adhesive capabilities, cyanoacrylate adhesives are known for their liquid consistency, low formation of lumps, and resistance to undesirable stretching tendencies. Although there may be side effects such as the development of allergy or contact dermatitis, they do not have a prominent odor, contributing to their desirability in the context of eyelash extension applications (10,14).

The advent of cyanoacrylate-based adhesives has significantly elevated the standard of adhesive materials employed in eyelash extension procedures. Their qualities, encompassing reliable adhesion, liquid texture, absence of clumping, minimal stretching, and low allergenicity, have collectively positioned them as the optimal choice for achieving safe eyelash extensions with good retention (10).

Eyelash extensions can be applied using various methods, with the most common technique being the use of cyanoacrylate adhesive to attach synthetic fibres to the natural lashes. Adhesive types and application methods vary among practitioners. Research into the efficacy and safety of different adhesive types, attachment techniques, and their impact on the natural lashes is an area that warrants further exploration (10,15).

As the eyelash extension adhesive reacts and dries with humidity, the drying time is directly related to it. For all eyelash extension adhesives, the recommended humidity is 45 to 60%, which shows the importance of further studies about the behaviour of adhesives on different environments as depending on the region the professional uses, the type of glue might change (10,16).

When properly used, the right shape of artificial eyelash extensions can correct and balance facial symmetry and open the eyes wider. Eyelash extensions can produce an illusion of various eye effects, giving a makeup appearance to the eye without applying it. It also can create the appearance of a lifted eye or even a more feline effect (17).

Safety Concerns

Safety is the greatest concern in any cosmetic procedure. Eyelash extensions have been associated with various safety issues, including eye irritation, allergies, and infections. In general, the main side effects described after the application were dry eyes,

Caracterizados pelas suas capacidades avançadas de aderência, os adesivos de cianoacrilato são conhecidos pela sua consistência líquida, baixa formação de grumos e resistência a tendências indesejadas de estiramento. Embora possam existir efeitos colaterais como o desenvolvimento de alergias ou dermatite de contato, não possuem um odor proeminente, contribuindo para a sua desejabilidade no contexto das extensões de pestanas (10,14).

A chegada dos adesivos à base de cianoacrilato elevou significativamente o padrão dos materiais adesivos utilizados em procedimentos de extensão de pestanas. Suas qualidades, englobando aderência confiável, textura líquida, ausência de grumos, estiramento mínimo e baixa alergenicidade, posicionaram-nos coletivamente como a escolha ótima para alcançar extensões de pestanas seguras com boa retenção (10).

As extensões de pestanas podem ser aplicadas utilizando vários métodos, sendo a técnica mais comum o uso de adesivo de cianoacrilato para fixar fibras sintéticas às pestanas naturais. Tipos de adesivos e métodos de aplicação variam entre os profissionais. A pesquisa sobre a eficácia e segurança de diferentes tipos de adesivos, técnicas de fixação e seu impacto nas pestanas naturais é uma área que merece uma exploração mais aprofundada (10,15).

Como o adesivo de extensão de pestanas reage e seca com a humidade, o tempo de secagem está diretamente relacionado com esta. Para todos os adesivos de extensão de pestanas, a umidade recomendada é de 45 a 60%, o que demonstra a importância de estudos adicionais sobre o comportamento dos adesivos em diferentes ambientes, já que dependendo da região em que o profissional atua, o tipo de cola pode variar. (10,16).

Quando utilizadas corretamente, as extensões de pestanas artificiais com a forma certa podem corrigir e equilibrar a simetria facial e abrir os olhos mais amplamente. As extensões de pestanas podem criar a ilusão de vários efeitos oculares, proporcionando uma aparência de maquiagem aos olhos sem aplicação real. Elas também podem criar a aparência de um olhar elevado ou até mesmo um efeito mais felino (17).

Preocupações com a Segurança

A segurança é a maior preocupação em qualquer procedimento cosmético. As extensões de pestanas têm sido associadas a várias questões de segurança, incluindo irritação ocular, alergias e infecções. Em geral, os principais efeitos colaterais descritos após

itchy eyelids, tearing, burning sensation, lid swelling and pain, the casting of shadows on vision, heavy eyelids, pus release, misdirected eyelashes, and eyelashes falling into the eye (9,16).

From the perspective of health, it is crucial to pay close attention to its effect on vision and the safety of the procedure, as the intermittent application of artificial lashes may interfere with the natural periodic shedding and growth of new lashes and cause some discomfort. Eyelash extensions could irritate the eyelid or clog follicles in the eyelid and pull out eyelashes during removal (9,18).

Furthermore, dry eyes that lead to tearing and a burning sensation can be attributed to the fact that during the application period (which lasts around 90 to 150 minutes), the eyes must remain closed, which avoids blinking, one of the primary mechanisms to moisten the ocular surface (19,20). Occasionally, after eyelash extension, there could be incomplete eyelid closure (lagophthalmos) during sleep, exposing the corneal surface to air, dust, and microbes, among others. This may lead to dry eyes syndrome, ocular bacteria, or fungal infection (10,11,21-23).

Purulent discharges are a rarer hygienic condition that may also lead to microbial infection of the eyelid or cases of blepharitis (7). The use of false eyelashes to sleep or for more than one day can cause bacteria to accumulate under the eyelash glue and on the fibre itself, causing eye infections (24). In the past, the client could not wash their face after the procedure. This has now changed due to more modern adhesives and additional steps as the use of a finishing product, but it is still a procedure adopted by some lash professionals. It can reduce hygienic conditions and cause microbial infection and accumulation of dirt that may enter the eye (9).

The adhesive used on eyelash extensions can contain allergenic compounds, and the application process may lead to eye injury. Eyelash extension glues for professional procedures are usually based on cyanoacrylates, which are acrylic resins that dry rapidly upon coming into contact with moisture, causing an exothermic reaction that can lead to a temperature increase and may cause burns if misapplied. This compound may be released into the air during the drying process, causing irritation. Risk factors associated with cyanoacrylate glue are the large volume of glue used (which liberates more heat

a aplicação foram olhos secos, pálpebras com comichão, lacrimejamento, sensação de queimadura, inchaço e dor nas pálpebras, projeção de sombras na visão, pálpebras pesadas, liberação de pus, pestanas mal direcionadas e queda de pestanas nos olhos (9,16).

Do ponto de vista da saúde, é crucial prestar atenção aos efeitos na visão e à segurança do procedimento, uma vez que a aplicação intermitente de pestanas artificiais pode interferir na descamação periódica natural e no crescimento de novas pestanas, causando desconforto. As extensões de pestanas podem irritar a pálpebra ou obstruir os folículos na pálpebra, podendo puxar as pestanas durante a remoção (9,18).

Além disso, os olhos secos que levam a lacrimejamento e sensação de queimadura podem ser atribuídos ao facto de que, durante o período de aplicação (que dura cerca de 90 a 150 minutos), os olhos têm de permanecer fechados, evitando piscar, um dos mecanismos primários para humedecer a superfície ocular (19,20). Ocasionalmente, após a extensão de pestanas, pode ocorrer um fecho incompleto das pálpebras (lagofítmia) durante o sono, expondo a superfície da córnea ao ar, poeira e micróbios, entre outros. Isso pode levar à síndrome do olho seco, bactérias oculares ou infeção fúngica (10,11,21-23).

Descargas purulentas são uma condição higiénica mais rara que pode também levar a uma infeção microbiana da pálpebra ou casos de blefarite (7). O uso de pestanas postiças para dormir ou por mais de um dia pode fazer com que as bactérias se acumulem sob a cola das pestanas e na própria fibra, causando infeções oculares (24). No passado, o cliente não podia lavar o rosto após o procedimento. Isso mudou agora devido a adesivos mais modernos e passos adicionais, como o uso de um produto de acabamento, mas ainda é um procedimento adotado por alguns profissionais de pestanas. Pode reduzir as condições higiénicas e causar infeção microbiana e acumulação de sujidade que pode entrar no olho (9).

O adesivo usado nas extensões de pestanas pode conter compostos alergénicos, e o processo de aplicação pode resultar em lesões oculares. As colas de extensão de pestanas para procedimentos profissionais geralmente são baseadas em cianoacrilatos, que são resinas acrílicas que secam rapidamente ao entrar em contato com a humidade, causando uma reação exotérmica que pode levar a um aumento de temperatura e causar queimaduras se aplicadas incorretamente. Este composto pode ser libertado para o ar durante o processo de secagem, causando irritação. Fatores de risco associados à cola de cianoacrilato são o grande volume de cola usado

as well as affects a larger area), the low viscosity of the glue (as a higher distribution of the glue results in a larger area being affected), and the presence of cotton (a catalyst in this exothermic reaction), which should be known by the eyelash professionals to avoid possible complications (25). Additionally, cyanoacrylate vapours, which are monomers, can irritate the eyes, nose, and throat mucous membranes. Therefore, to reduce the vapours, ethyl cyanoacrylate is replaced by its alkyl and/or alkoxy derivatives, thus obtaining a less allergenic adhesive that does not have toxic fumes. Another interesting point is that an experienced and reliable professional beautician should perform a patch test to determine whether an individual is allergic to the materials used, avoiding other serious health problems (10,26).

The adhesive is composed of the pre-polymer of formaldehyde and alkyl cyanoacetate depolymerized so that the liquid monomer of cyanoacrylate is obtained. Cyanoacrylate rapidly polymerizes when in contact with water or hydroxyl groups (-OH), forming long, strong chains responsible for bonding the fibres. Its side chains determine its differences in property and use. The longer the chain is, the slower it degrades, with lower reactivity and toxicity. Commercial cyanoacrylates used as "fast-acting" adhesives have a quicker degradation, and because of that, more irritation to skin tissue and a higher toxicity as well (10,27).

Ethyl cyanoacrylate (ECA) has low volatility and takes more time to evaporate. On the other hand, eyelash glues may also have small amounts of methyl methacrylate and/or butyl acrylate that, unlike ECA, evaporate quite quickly. Nevertheless, the total amount of airborne (meth) acrylate derivatives is likely to be below the irritant threshold during the application of lash extensions (10,28).

This is a polemic topic in the eyelash community, as professionals are interested in having the safest adhesive with good adherence and fast drying times, but it is not very well understood how the chemistry behind all of this truly works. This way, more studies with a proper qualification of each substance for this end and a standard education for all professionals are needed to avoid misinformation and confusion about the products in the market.

(que liberta mais calor e afeta uma área maior), a baixa viscosidade da cola (uma distribuição maior da cola afeta uma área maior) e a presença de algodão (um catalisador nesta reação exotérmica), que deve ser conhecido pelos profissionais de pestanas para evitar possíveis complicações (25). Além disso, vapores de cianoacrilato, que são monômeros, podem irritar as membranas mucosas dos olhos, nariz e garganta. Portanto, para reduzir os vapores, o etilcianoacrilato é substituído pelos seus derivados de alquil e/ou alcoxi, obtendo assim uma cola menos alergénica que não possui vapores tóxicos. Outro ponto interessante é que um profissional de beleza experiente e confiável deve realizar um teste de sensibilidade para determinar se uma pessoa é alérgica aos materiais utilizados, evitando outros problemas de saúde mais graves (10,26).

O adesivo é composto pelo pré-polímero de formaldeído e cianoacetato de alquil despolimerizado para que o monómero líquido de cianoacrilato seja obtido. O cianoacrilato polimeriza rapidamente quando em contato com a água ou grupos hidroxila (-OH), formando cadeias longas e fortes responsáveis pela ligação das fibras. Suas cadeias laterais determinam suas diferenças em propriedade e uso. Quanto mais longa for a cadeia, mais lenta é a degradação, com menor reatividade e toxicidade. Os cianoacrilatos comerciais usados como adesivos "de ação rápida" têm uma degradação mais rápida e, por isso, causam mais irritação nos tecidos da pele e uma maior toxicidade também (10,27).

O cianoacrilato de etilo (CAE) tem baixa volatilidade e leva mais tempo para evaporar. Por outro lado, as colas de pestanas podem também ter pequenas quantidades de metacrilato de metilo e/ou acrilato de butilo que, ao contrário do CAE, evaporam bastante rapidamente. No entanto, a quantidade total de derivados de (met)acrilato no ar é provavelmente inferior ao limite irritante durante a aplicação de extensões de pestanas (10,28).

Este é um tópico polémico na comunidade das extensões de pestanas, pois os profissionais estão interessados em ter a cola mais segura com uma boa aderência e secagem rápida, mas não se compreende muito bem como a química por trás de tudo isto realmente funciona. Assim, são necessários mais estudos com uma qualificação adequada de cada substância para este fim e uma formação padronizada para todos os profissionais, de modo a evitar informações incorretas e confusão sobre os produtos presentes no mercado.

Individual components, such as ECA, are present in concentrations that are unlikely to cause airway irritation and have evaporated quite effectively considering their poor volatility and the small quantity of glue applied to the lashes. This supports the hypothesis that the reactions result from sensitization rather than irritation (9). This way, eyelash extension professionals may develop occupational asthma and rhinitis, and to prevent it, along with respiratory protective equipment, salons and clinics that offer lash extensions should also provide adequate general ventilation (29).

Polymethylmethacrylate (PMMA) is a component that affects viscosity and bonding speed. Higher concentrations of this substance lead to a greater density and slower gluing process (10,30).

Furthermore, the added weight of extensions can potentially damage natural lashes over time, leading to concerns about long-term lash health. The extra weight added to the lashes increases follicle tension, however, there is no standard quantification of how much weight is safe for the natural eyelash (9,31).

Existing studies highlight the importance of proper practitioner training and hygiene, but there is a notable lack of comprehensive research on the safety profile of eyelash extensions. Further studies are necessary to verify the actual welfare of both professional and client, as most studies are based on information extrapolated from other areas. The clarification of the actual damage caused by the weight of one fake eyelash glued to the natural one is also an important knowledge gap that needs to be filled.

Although all these problems were encountered during the application procedure and while wearing it, the demand for individual interest in eyelash extensions did not decrease. As many as 67.2% of the clients said they would undergo the eyelash extension procedure again (9).

Aesthetic Considerations

Although eyelashes have several essential biological functions in maintaining the eye's integrity, they also play a significant role in a person's aesthetic perception, especially in women. This fact is the primary aim of eyelash extensions, to improve the appearance of the eyes without applying any type of makeup or other procedures, being semi-permanent to the natural lashes (32).

Componentes individuais, como o CAE, estão presentes em concentrações que dificilmente causam irritação das vias respiratórias e evaporaram de maneira bastante eficaz, considerando a baixa volatilidade e a pequena quantidade de cola aplicada nas pestanas. Isso apoia a hipótese de que as reações resultam da sensibilização em vez de irritação (9). Dessa forma, profissionais de extensão de pestanas podem desenvolver asma ocupacional e rinite, e para prevenir isso, juntamente com equipamentos de proteção respiratória, os locais de beleza que oferecem extensões de pestanas também devem fornecer ventilação geral adequada (29).

O polimetilmetacrilato (PMMA) é um componente que afeta a viscosidade e a velocidade de ligação. Concentrações mais elevadas dessa substância levam a uma maior densidade e a um processo de colagem mais lento (10,30).

Além disso, o peso adicional das extensões pode potencialmente danificar as pestanas naturais ao longo do tempo, levando a preocupações sobre a saúde a longo prazo das pestanas. O peso adicional adicionado às pestanas aumenta a tensão nos folículos, mas não há uma quantificação padrão de quanto peso é seguro para as pestanas naturais (9,31).

Estudos existentes destacam a importância da formação adequada do profissional e da higiene, mas há uma falta significativa de pesquisa abrangente sobre o perfil de segurança das extensões de pestanas. São necessários mais estudos para verificar o bem-estar real tanto dos profissionais quanto dos clientes, pois a maioria dos estudos é baseada em informações extrapoladas de outras áreas. A clarificação dos danos reais causados pelo peso de uma pestana artificial colada à natural é também uma lacuna importante que precisa ser preenchida.

Embora todos esses problemas tenham sido encontrados durante o procedimento de aplicação e enquanto as usavam, a procura pelo interesse individual em extensões de pestanas não diminuiu. Até 67,2% dos clientes afirmaram que voltariam a repetir o procedimento de extensão das pestanas (9).

Considerações Estéticas

Embora as pestanas desempenhem várias funções biológicas essenciais na manutenção da integridade do olho, têm também um papel significativo na percepção estética de uma pessoa, especialmente nas mulheres. Este facto é o principal objetivo das extensões de pestanas: melhorar a aparência dos olhos sem a aplicação de qualquer tipo de maquiagem ou outros procedimentos, sendo semi-permanentes em relação às pestanas naturais (32).

Historically, human eyelashes are one of several facial features contributing to facial attractiveness, and long and full eyelashes are considered beautiful (4,33). In many cultures, such as earlier civilizations in the Middle East and North Africa, eyelashes have been used to enhance and modify facial attractiveness and, in particular, the beauty of the eyes. These practices are still seen currently, as women's use of mascaras and curlers is part of the daily beauty routine of much of the population, and the popularity of procedures such as eyelash extensions and even eyelash transplants is a current trend (34).

There are a wide variety of methods to apply eyelash extensions. According to the organization of the fibres, it is possible to achieve different results that can go from a natural to a dramatic look, depending on the choice of lash length, curl, and volume. Many professionals in the area have even created their own personal style of application, which turns into their brand and attracts more clients who desire that specific look (Figure 1).

However, the personal preferences of clients, as well as cultural and societal norms, play a substantial role in determining the aesthetics of eyelash extensions. The relationship between lash aesthetics and self-esteem, body image, and social perceptions is an area that merits further investigation.

One example of cultural norms is the Asian popular, in which the population has much shorter eyelashes than Caucasians. This way, long eyelashes are highly desired, and there is a high demand for eyelash extensions, especially in younger Asian women (35).

Historicamente, as pestanas humanas são uma das várias características faciais que contribuem para a atratividade facial, sendo que olhos longos e cheios são considerados belos (4,33). Em muitas culturas, como nas antigas civilizações do Médio Oriente e Norte de África, as pestanas têm sido usadas para realçar e modificar a atratividade facial e, em particular, a beleza dos olhos. Estas práticas ainda são vistas nos dias de hoje, já que o uso de máscaras e curvex faz parte da rotina diária de beleza de uma grande parte da população, e a popularidade de procedimentos como extensões de pestanas e até transplantes de pestanas é uma tendência atual (34).

Existem várias maneiras de aplicar extensões de pestanas. De acordo com a organização das fibras, é possível obter resultados diferentes, que podem variar de um aspecto natural a um visual mais dramático, dependendo da escolha do comprimento, curvatura e volume das pestanas. Muitos profissionais da área até criaram o seu próprio estilo pessoal de aplicação, que se torna na sua marca e atrai mais clientes que desejam aquele look específico (Figura 1).

No entanto, as preferências pessoais dos clientes, assim como as normas culturais e sociais, desempenham um papel substancial na determinação da estética das extensões de pestanas. A relação entre a estética das pestanas e a autoestima, imagem corporal e percepções sociais é uma área que merece uma investigação mais aprofundada.

Um exemplo de normas culturais é a popularidade asiática, em que a população tem pestanas muito mais curtas do que os caucasianos. Desta forma, pestanas longas são altamente desejadas, e há uma grande procura por extensões de pestanas, especialmente entre as mulheres asiáticas mais jovens (35).



Figure 1 - Before application and the final result of eyelash extension.

Figura 1 - Antes da aplicação e o resultado final de uma extensão de pestanas.

Few research groups have investigated the relationship between eyelash appearance and the perceived personal aesthetic. According to Pazhoohi and Kingstone (34), from an adaptive evolutionary perspective, the attractiveness of a person is related to their health and genetic quality (37,38). This way, as extremely short and very long eyelashes indicate diseases, these characteristics are considered less desirable and less attractive.

There is still a variation in the perceived personal aesthetic according to geography and social state. This highlights the importance of having different methods and options to comprise all populations. With this necessity, the eyelash extension has even more space to grow and renovate over the years.

In this context, Amador et al. (38) measured the eyelashes of twenty-two mammals. They showed that the eyelash length is phylogenetically constant and is approximately one-third of the eye width. To quantify this, they proposed that considering eyelashes act as air filters for the eyes, it is possible to measure the airflow around and through them using theoretical models and simulated eyelashes. The results showed that the best length of eyelashes to the eye's width (L/W ratio) for minimizing evaporation and contamination at the ocular surface was approximately 0.35 ± 0.15 . This study is important to the area so that it is possible to have a scientific reference of what to achieve with the use of products or other cosmetic procedures. Still, the client's preferences and personal beauty standards will be crucial to deciding the desired result (34).

Lastly, with the increasing interest in this procedure, the market is developing an infinity of options for eyelash extension clients. New sizes, models, colours, and materials are available, and the trends change every season, thus a full investigation of these updates is necessary to produce the scientific data regarding this theme according to the reality and, with that, improve safety and clarity for all professionals.

Poucos grupos de pesquisa investigaram a relação entre a aparência das pestanas e a percepção estética pessoal. Segundo Pazhoohi e Kingstone (34), de uma perspectiva evolutiva adaptativa, a atratividade de uma pessoa está relacionada com a sua saúde e qualidade genética (37,38). Assim, como pestanas extremamente curtas e muito longas indicam doenças, essas características são consideradas menos desejáveis e menos atrativas.

Ainda existe uma variação na percepção estética pessoal de acordo com a geografia e o estado social. Isso destaca a importância de ter diferentes métodos e opções para abranger todas as populações. Com essa necessidade, a extensão de pestanas tem ainda mais espaço para crescer e se renovar ao longo dos anos.

Neste contexto, Amador et al. (38) mediram as pestanas de vinte e dois mamíferos. Eles mostraram que o comprimento das pestanas é filogeneticamente constante e é aproximadamente um terço da largura do olho. Para quantificar isso, propuseram que, considerando que as pestanas atuam como filtros de ar para os olhos, é possível medir o fluxo de ar ao redor e através delas usando modelos teóricos e pestanas simuladas. Os resultados mostraram que o melhor comprimento de pestanas para a largura do olho (razão L/W) para minimizar a evaporação e a contaminação na superfície ocular era de aproximadamente $0,35 \pm 0,15$. Este estudo é importante para a área, para que seja possível ter uma referência científica do que alcançar com o uso de produtos ou outros procedimentos cosméticos. Ainda assim, as preferências e padrões de beleza pessoais do cliente serão cruciais para decidir o resultado desejado (34).

Por último, com o crescente interesse neste procedimento, o mercado está a desenvolver uma infinidade de opções para os clientes de extensões de pestanas. Novos tamanhos, modelos, cores e materiais estão disponíveis, e as tendências mudam a cada temporada, por isso uma investigação completa sobre essas atualizações é necessária para tornar a literatura científica sobre o tema de acordo com a realidade e, com isso, mais segura e clara para todos os profissionais.

Conclusion

Eyelash extensions have become a popular cosmetic procedure, attracting significant attention from consumers and practitioners. This way, advancements in eyelash extension products and techniques continue to evolve, offering clients a diverse range of options. Keeping abreast of these developments and conducting ongoing research is essential to ensure that the scientific literature remains relevant, informative, and aligned with current industry trends and practices. A collaborative effort between researchers, professionals, and clients is also necessary to promote safe, effective, and aesthetically pleasing outcomes in the eyelash extension area.

Further research in this field can lead to better and updated safety standards, improved application techniques, and a deeper understanding of the aesthetic implications of eyelash extensions. This, in turn, will contribute to the informed decision-making of individuals seeking this cosmetic enhancement and the overall advancement of the field of beauty science.

Authors Contributions Statement

Maísa Oliveira de Melo was the sole researcher involved in the development of this article.

Conflicts of Interest

Maísa Oliveira de Melo is an employee of Cherry Lash Cosmetics.

Conclusões

As extensões de pestanas tornaram-se um procedimento cosmético popular, atraindo uma atenção significativa tanto dos consumidores quanto dos profissionais. Dessa forma, os avanços nos produtos e técnicas de extensão de pestanas continuam a evoluir, oferecendo uma gama diversificada de opções para os clientes. Estar atualizado sobre esses desenvolvimentos e conduzir pesquisas contínuas é essencial para garantir que a literatura científica permaneça relevante, informativa e alinhada com as tendências e práticas atuais da indústria. Um esforço colaborativo entre pesquisadores, profissionais e clientes também é necessário para promover resultados seguros, eficazes e esteticamente agradáveis na área de extensões de pestanas.

Pesquisas adicionais nesse campo podem levar a padrões de segurança melhores e atualizados, técnicas de aplicação aprimoradas e uma compreensão mais profunda das implicações estéticas das extensões de pestanas. Isso, por sua vez, contribuirá para a tomada de decisões informadas das pessoas que buscam esse aprimoramento cosmético e para o avanço geral do campo da ciência da beleza.

Declaração sobre as contribuições do autor

Maísa Oliveira de Melo foi a única autora e contribuidora deste artigo.

Conflitos de Interesse

Maísa Oliveira de Melo é uma funcionária da empresa Cherry Lash Cosméticos.






References / Referências

1. Catania, J. L. (1996). Primary care of the anterior segment (2nd Ed.). Appleton & Lange.
2. Edwards, R. (2011). Eye lash growth. [eHow.com; © 1999-2011]. Retrieved from http://www.ehow.com/about_5403623_eye-lash-growth.html#ixzz1CLV3Ccao
3. Thibaut, S., De Becker, E., Caisey, L., Baras, D., Karatas, S., Jammayrac, O., ... & Bernard, B. A. (2010). Human eyelash characterization. *The British journal of dermatology*, 162(2), 304–310. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2009.09487.x>
4. Patel, B., & Meyers, A. D. (2011). Eyelid anatomy. [WebMD LLC © 1994-2012]. Retrieved from <http://emedicine.medscape.com/article/834932-overview>
5. Aumond, S., & Bitton, E. (2018). The eyelash follicle features and anomalies: A review. *Journal of optometry*, 11(4), 211–222. <https://doi.org/10.1016/j.optom.2018.05.003>
6. James, W. D., Elston, D., & Berger, T. (2011). Andrew's diseases of the skin (Clinical dermatology). Elsevier Health Sciences.
7. Grimms, L., & Graham, R. H. (2012). Common eye conditions. Medscape Reference [© 1994-2012 by WebMD LLC]. Retrieved from <http://reference.medscape.com/features/slideshow/common-eye-conditions>
8. Hadza, C. (2003). Encyclopedia of sex and gender: Men and women in the world's cultures (Volume 1). Springer.
9. Koffuor, G. A., Anto, B. P., Afari, C., Kyei, S., & Gyanfosu, L. (2012). Ocular discomforts following eyelash extension. *Journal of Medical and Biomedical Sciences*, 1(3), 55-61.
10. Galimzyanova, R. Y., Garifullina, A. R., Garipov, R. R., Lisanevich, M. S., & Musin, I. N. (2020). Application of adhesives in cosmetology. *Key Engineering Materials*, 869, 88-92.
11. US Patent 1831801. (1931). Method for the artificial elongation of eyelashes.
12. US Patent 3833007. (1974). Artificial eyelashes.
13. Klemarczyk, P., & Guthrie, J. (2010). Advances in anaerobic and cyanoacrylate adhesives. In *Advances in structural adhesive bonding* (pp. 96-131). Woodhead Publishing.
14. Xiong, M., Shaik, J. A., & Hylwa, S. (2022). Formaldehyde Release From Eyelash Glues: Analysis Using the Chromotropic Acid Method. *Dermatitis: contact, atopic, occupational, drug*, 33(6), 442–446. <https://doi.org/10.1097/DER.0000000000000910>
15. Vickery, S. A., Kolas, R., & Dicko, F. (2015). Eye cosmetics. In *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*, 199-206.
16. Han, J., Xie, Z., Zhu, X., Ruan, W., Lin, M., Xu, Z., Miao, L., Zhong, J., Lu, F., & Hu, L. (2024). The effects of eyelash extensions on the ocular surface. *Contact lens & anterior eye: the journal of the British Contact Lens Association*, 47(2), 102109. <https://doi.org/10.1016/j.clae.2023.102109>
17. Alzahrani, T., Al-Nuaimy, W., & Al-Bander, B. (2021). Integrated multi-model face shape and eye attributes identification for hair style and eyelashes recommendation. *Computation*, 9(5), 54; <https://doi.org/10.3390/computation9050054>
18. Sachdeva, S., & Prasher, P. (2008). Madarosis: a dermatological marker. *Indian journal of dermatology, venereology and leprology*, 74(1), 74–76. <https://doi.org/10.4103/0378-6323.38426>.
19. Mouselli, J. (2010). Xtreme eyelashes [© 2001-2010]. Retrieved from <http://www.xtremelashes.com>
20. Bedinghaus, T. (2007). Top seven symptoms of dry eye syndrome. About.com Guide [©2012 About.com]. Retrieved from http://vision.about.com/od/sportsvision/tp/Dry_Eye.htm
21. Alfonso, E. C. (2008). Genotypic identification of Fusarium species from ocular sources: Comparison to morphologic classification and antifungal sensitivity testing (An AOS Thesis). *Transactions of the American Ophthalmological Society*, 106, 227–239.
22. Amer, T. A., El-Minawi, H. M., & El-Shazly, M. I. (2011). Low-level versus high-level placement of gold plates in the upper eyelid in patients with facial palsy. *Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)*, 5, 891–895. <https://doi.org/10.2147/OPHT.S21491>.
23. Jernigan, K. (2011). Side effects of eyelash extensions. Livestrong.com [© 2012 Demand Media, Inc.]. Retrieved from <http://www.livestrong.com/article/297718-sideeffects-of-eyelash-extensions/>
24. Champion, L. (2009). The pros and cons of false eye lashes. Livestrong.com [© 2012 Demand Media, Inc.]. Retrieved from <http://www.livestrong.com/article/47240-pros-cons-false-eye>
25. Nardeosingh, S., & Tung, A. S. W. Thermal injury, and false eyelashes. *The Plastic, Maxillofacial Surgery and Aesthetics Journal*, 7 (4).
26. The Beauty Insiders. (2012). Three most common side effects of having fake lashes. [© 2012 The Beauty Insiders]. Retrieved from <http://www.thebeautyinsiders.com/3-most-common-side-effects-of-havingfake-lashes.html>
27. Brambilla, E., Crevani, M., Petrolini, V. M., Scaravaggi, G., Di Primo, M., Roda, E., & Locatelli, C. A. (2020). Exposure to Nail and False Eyelash Glue: A Case Series Study. *International journal of environmental research and public health*, 17(12), 4283. <https://doi.org/10.3390/ijerph17124283>
28. Calado, R., Gomes, T., Matos, A., & Gonçalves, M. (2021). Contact dermatitis to nail cosmetics. *Current Dermatology Reports*, 10, 173–181. <https://doi.org/10.1007/s13671-021-00345-2>
29. Lindström, I., Suojalehto, H., Henriks-Eckerman, M. L., & Suuronen, K. (2013). Occupational asthma and rhinitis caused by cyanoacrylate-based eyelash extension glues. *Occupational medicine (Oxford, England)*, 63(4), 294–297. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqt020>
30. Ali, U., Karim, K. J. B. A., & Buang, N. A. (2015). A review of the properties and applications of poly (methyl methacrylate)(PMMA). *Polymer Reviews*, 55(4), 678-705. <https://doi.org/10.1080/15583724.2015.1031377>
31. Bauman, A. J. (2007). Eyelash transplantation is not just for reconstructive purposes anymore. It is becoming part of the aesthetic surgery mainstream. *Plastic Surgery Practice* [© 2012 Allied Media]. Retrieved from http://www.plasticsurgerypractice.com/issues/articles/2007-03_02.asp#risks
32. Espinoza-Silva, J. I., Macias-Nevarez, E., Scheckhuber, C. Q., & Tienda-Vázquez, M. A. (2023). A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study to evaluate the efficacy and safety of latanoprost for eyelash growth in aesthetic medicine. *Cosmetics*, 10(5), 136; <https://doi.org/10.3390/cosmetics10050136>
33. Dang, J., Cole, J. C., Burgess, S. M., Yang, M., Daniels, S. R., & Walt, J. G. (2016). Development and validation of the Eyelash Satisfaction Questionnaire. *Aesthetic Surgery Journal*, 36(2), 221–228. <https://doi.org/10.1093/asj/sjv154>
34. Pazhoohi, F., & Kingstone, A. (2020). The effect of eyelash length on attractiveness: A previously uninvestigated indicator of beauty. *Evolutionary Behavioral Sciences*, 16(2), 176–180. <https://doi.org/10.1037/ebc0000243>

35. Wang, J., Fan, J., & Chai, J. (2010). Aesthetic eyelash elongation for Asians using a dense-packing single-hair grafting technique. *Dermatologic surgery : official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al.]*, 36(7), 1155–1160. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2010.01600.x>
36. Gangestad, S. W., & Scheyd, G. J. (2005). The evolution of human physical attractiveness. *Annual Review of Anthropology*, 34(1), 523-548. <https://doi.org/10.1146/annurev.anthro.33.070203.143733>
37. Grammer, K., Fink, B., Møller, A. P., & Thornhill, R. (2003). Darwinian aesthetics: sexual selection and the biology of beauty. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 78(3), 385–407. <https://doi.org/10.1017/s1464793102006085>
38. Amador, G. J., Mao, W., DeMercurio, P., Montero, C., Clewis, J., Alexeev, A., & Hu, D. L. (2015). Eyelashes divert airflow to protect the eye. *Journal of the Royal Society, Interface*, 12(105), 20141294. <https://doi.org/10.1098/rsif.2014.1294>

Exploring Telerehabilitation with Clynx® Platform: Usability and Impact Assessment

Exploração da Telereabilitação com a Plataforma Clynx®: Avaliação de Usabilidade e Impacto

Irina Esteves Lopes^{1,4} , Maria Leonor Adrião², Paulo Clemente², Hugo Plácido da Silva^{3,4} , Gil Dias¹ ,
Gonçalo Chambel¹ , & Joana Figueiredo Pinto¹ 

Keywords: physiotherapy, Clynx, patient-centred care, usability, sustainable healthcare

Palavras-chave: fisioterapia, Clynx, cuidado centrado no paciente, usabilidade, saúde sustentável

To Cite:

Esteves Lopes, I., et al. (2024) Exploring Telerehabilitation with Clynx® Platform: Usability and Impact Assessment. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 21(1), 137-159.

 [10.19277/bbr.21.1.329](https://doi.org/10.19277/bbr.21.1.329)

1 - Clynxio, Lda. (Clynx Health), Rua Augusto Macedo, 6, 5º Dto., 1600-794, Lisboa, Portugal

2 - Centro Hospitalar do Oeste E.P.E. (Unidade Local de Saúde do Oeste), Rua Diário de Notícias, 2500-176 Caldas da Rainha, Portugal

3 - IT – Instituto de Telecomunicações, Instituto Superior Técnico, Torre Norte - Piso 10, Av. Rovisco Pais, 1, 1049-001 Lisboa, Portugal

4 - Instituto Superior Técnico - Universidade de Lisboa, Av. Rovisco Pais, 1, 1049-001, Lisboa, Portugal

Correspondence to / Correspondência a:
info@Clynx.io

Received / Recebido: 04/11/2023
Accepted / Aceite: 16/03/2024

Abstract

Telerehabilitation offers a transformative approach to physiotherapy, offering convenience, practicality, and sustainability. This paper presents a clinical study conducted at Unidade Local de Saúde do Oeste, in Portugal, involving 37 physiotherapy patients with chronic shoulder pain who utilized the Clynx® Platform for an average of 15.22 home-based sessions. Analysis of physiotherapist login data and patient travel data allowed for evaluation of platform usability, physiotherapist time management, and environmental impact. Patients highlighted schedule flexibility and time optimization as primary advantages, with 36.85% of sessions occurring on weekends and after hours, catering especially to busy professionals. In this study, telerehabilitation saved over 12,000 kilometres of travel and related expenses, while reducing carbon emissions by over 1.30 tons. The Clynx® Platform optimized physiotherapist-patient time management, saving approximately 45.30% of time in mild patient care, which could be redirected to more acute cases, potentially alleviating waiting lists in public hospitals. Telerehabilitation demonstrated positive impacts on usability, socioeconomic factors, and environmental indicators for both patients and healthcare professionals, driving the digitization of physiotherapy towards efficient, sustainable, and patientcentric care. This study underscores telerehabilitation as a promising avenue for the future of physiotherapy.

Resumo

A telereabilitação oferece uma abordagem transformadora à fisioterapia, proporcionando conveniência, praticidade e sustentabilidade. Este artigo apresenta um estudo clínico realizado na Unidade Local de Saúde do Oeste, em Portugal, envolvendo 37 pacientes de fisioterapia com dor crónica no ombro que utilizaram a Plataforma Clynx® para uma média de 15,22 sessões domiciliárias. A análise dos dados de login dos fisioterapeutas e dos dados de deslocamento dos pacientes permitiu avaliar a usabilidade da plataforma, a gestão do tempo dos fisioterapeutas e o impacto ambiental. Os pacientes destacaram a flexibilidade de horários e a otimização do tempo como principais vantagens, com 36,85% das sessões ocorrendo aos fins de semana e fora do horário comercial, atendendo especialmente aos profissionais ocupados. Neste estudo, a telereabilitação economizou mais de 12.000 quilómetros de deslocamento e despesas relacionadas, além de reduzir as emissões de carbono em mais de 1,30 toneladas. A Plataforma Clynx® otimizou a gestão do tempo entre fisioterapeutas e pacientes, economizando aproximadamente 45,30% do tempo no cuidado de pacientes leves, que poderia ser direcionado para casos mais agudos, potencialmente aliviando as listas de espera em hospitais públicos. A telereabilitação demonstrou impactos positivos na usabilidade, fatores socioeconómicos e indicadores ambientais tanto para pacientes quanto para profissionais de saúde, impulsionando a digitalização da fisioterapia rumo a um cuidado eficiente, sustentável e centrado no paciente. Este estudo destaca a telereabilitação como uma promissora abordagem para o futuro da fisioterapia.

Introduction

Effective rehabilitation solutions, specifically tailored to individual patient needs, are vital for timely and comprehensive recovery. However, the existence of long waiting lists for such services exacerbates the challenges patients face in accessing essential care. Prolonged waiting times lead to adverse effects on patients (1) and increased healthcare costs (2). These lengthy waiting periods are particularly prevalent in areas with high demand and limited resources (3). Telerehabilitation emerges as a promising solution to reduce waiting times, especially for non-urgent cases (1, 4).

The COVID-19 pandemic forced a rapid shift to remote physiotherapy, offering a unique opportunity to evaluate telerehabilitation's effectiveness (5-7). Research has consistently shown comparable or superior outcomes to in-person care (8-10). Proper implementation and management are crucial for its successful integration into healthcare systems (11).

Gamification in physiotherapy offers a promising solution for enhancing rehabilitation outcomes, especially for patients struggling with conventional exercises. By integrating rewards and challenges, this approach motivates patients to engage consistently and track their progress, fostering adherence and achievement (12). This technique is versatile across various medical conditions but requires consideration of individual preferences and technological proficiency. While challenges such as long-term engagement and user comfort exist, gamified techniques show potential in improving recovery and treatment adherence (13). Continued research and refinement are essential for maximizing their effectiveness and revolutionizing rehabilitation practices. (14)

This study assesses the Clynx® Platform, a gamification tool that supports remote physiotherapy. It enables physiotherapists to customize treatment plans and monitor patient progress. Patients engage with the platform through gamified exercises, improving motivation and autonomy.

Introdução

As soluções de tratamento para fisioterapia, especificamente personalizadas às necessidades individuais do paciente, desempenham um papel crucial em apoiar os pacientes na sua jornada de recuperação, mas as longas listas de espera para os serviços de Medicina de Reabilitação representam um entrave significativo. Os tempos de espera prolongados levam a efeitos adversos nos pacientes (1) e aumentam os gastos na saúde (2). Estes períodos de espera longos são particularmente prevalentes em áreas com elevada procura e recursos limitados (3). Assim, a telereabilitação surge como uma solução promissora para reduzir os tempos de espera, especialmente para casos não urgentes (1, 4).

A pandemia COVID-19 forçou uma transição rápida para a fisioterapia remota, oferecendo uma oportunidade única para avaliar a eficácia da telereabilitação (5-7). Vários estudos têm mostrado consistentemente que os resultados desta ferramenta são comparáveis ou superiores aos cuidados presenciais (8-10). Para uma integração bem-sucedida da telereabilitação nos sistemas de saúde é necessária uma implementação e gestão de recursos adequadas (11).

A gamificação na fisioterapia oferece uma solução promissora para melhorar os resultados da reabilitação, especialmente para pacientes com dificuldades nos exercícios convencionais. Ao integrar recompensas e desafios, essa abordagem motiva os pacientes a se engajarem de forma consistente e a acompanharem seu progresso, promovendo a adesão e o alcance de objetivos (12). Essa técnica é versátil em diversas condições médicas, mas requer consideração das preferências individuais e da proficiência tecnológica. Embora desafios como o envolvimento a longo prazo e o conforto do utilizador existam, as técnicas gamificadas mostram potencial em melhorar a recuperação e a adesão ao tratamento (13). Pesquisas contínuas e refinamentos são essenciais para maximizar a sua eficácia e revolucionar as práticas de reabilitação (14).

Este estudo avalia a Plataforma Clynx®, uma ferramenta de gamificação que apoia a fisioterapia em regime remoto. Ela permite aos fisioterapeutas personalizar planos de tratamento e monitorizar o progresso do paciente. Os pacientes interagem com a plataforma através de exercícios gamificados, melhorando a motivação e a autonomia.

The core aim of this study is to assess the usability of the Clynx[®] Platform within a clinical context and its effect on physiotherapists' time allocation. Through this evaluation, we seek to determine the feasibility of telerehabilitation as an alternative for patients with less urgent conditions, leveraging the benefits offered by the Clynx[®] Platform. Additionally, the study investigates the socioeconomic and environmental ramifications of telerehabilitation, emphasizing its capacity to diminish waiting lists and minimize the healthcare system's ecological impact.

The article is organized into four sections: Materials and Methods, Results, Discussion, and Conclusion.

Materials and Methods

Clynx[®] Platform

The Clynx[®] Platform integrates a 3D motion capture camera (Oqus 300, Qualisys AB, Sweden) with proprietary software. The software includes a Desktop Application for patients to carry out physiotherapy sessions, and a Clinical Portal for physiotherapists to supervise and manage patients' treatment plans. The aim is to increase patient motivation throughout their rehabilitation journey.

The Desktop Application allows patients to engage in gamified physiotherapy exercises, utilizing a sophisticated motion capture system. Prior to each session, the software undergoes calibration to establish a baseline for every patient, ensuring accurate tracking of progress. During exercises, the 3D camera captures intricate motion data, enabling the platform to generate a virtual representation of the patient's body based on joint locations. This allows for an objective assessment of patient movements throughout each exercise (Figure 1). Additionally, the platform offers visualization of session data, including dates, exercises performed, and performance metrics.

The Clinical Portal enables physiotherapists to create and manage individual patient profiles and tailor treatment plans for each patient. Each patient's progress can be remotely monitored, and treatment plans updated as necessary. This comprehensive approach ensures optimal care and facilitates seamless adjustments to treatment protocols as patients progress toward recovery.

O objetivo principal deste estudo é avaliar a usabilidade da Plataforma Clynx[®] num contexto clínico e o seu efeito na alocação de tempo dos fisioterapeutas. Por meio desta avaliação, procuramos determinar a viabilidade da telereabilitação como alternativa para pacientes com condições menos urgentes, aproveitando os benefícios oferecidos pela Plataforma Clynx[®]. Além disso, o estudo investiga as ramificações socioeconômicas e ambientais da telereabilitação, enfatizando sua capacidade de reduzir listas de espera e minimizar o impacto ecológico do sistema de saúde.

O artigo está organizado em quatro seções: Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusões.

Materiais e Métodos

Plataforma Clynx[®]

A Plataforma Clynx[®] é composta por uma câmara de captura de movimento 3D (Oqus 300, Qualisys AB, Suécia) e software proprietário. O software inclui uma aplicação para o PC para que os pacientes realizem sessões de fisioterapia, e um Portal Clínico para os fisioterapeutas supervisionarem e gerirem os planos de tratamento dos pacientes. O propósito é aumentar a motivação dos pacientes durante as suas sessões de fisioterapia.

A aplicação para o PC permite que os pacientes participem em exercícios de fisioterapia gamificados, utilizando um sofisticado sistema de captura de movimentos. Antes de cada sessão, o software é calibrado para estabelecer uma linha de base para cada paciente, garantindo um acompanhamento exato do progresso. Em cada exercício, os dados de movimento do paciente são obtidos usando uma câmara 3D. Isso permite que o software crie uma representação virtual do corpo do paciente, com base na localização de suas articulações, e avalie objetivamente os movimentos dos pacientes durante o exercício (Figura 1). Por fim, a plataforma permite a visualização de dados sobre as sessões realizadas, incluindo a data, os exercícios que foram realizados e métricas de desempenho.

O Portal Clínico permite aos fisioterapeutas criar perfis individuais para os pacientes, personalizar planos de tratamento e selecionar exercícios de reabilitação específicos, adaptados a cada paciente. O progresso de cada paciente pode ser monitorizado remotamente e os planos de tratamento podem

The Clynx® Platform's functionalities, such as motion capture, have received positive feedback from both patients and physiotherapists regarding patient adherence and motivation (12).

Sample Characterization

The experimental protocol was approved by the Ethics Committee of the Unidade Local de Saúde do Oeste (Reference: 17/CES/2022).

The inclusion criteria for this study targeted adult patients suffering from a shoulder-related pathology that required at least ten sessions of telerehabilitation.

Specifically, the study targeted patients who suffered Shoulder Pain or Tendinopathy (e.g., Supra spinous tendinitis; Calcifying tendinitis of the rotator cuff; Rupture of the supraspinatus, the rotator cuff, or the long portion of the biceps). Patients were also required to have a Wi-Fi connection, a PC operating with Windows (8 or above), and a free space of around 1.5x2 meters surrounding the PC for the home-based sessions.

ser actualizados quando necessário. Esta estratégia integrada garante cuidados óptimos e facilita ajustes contínuos aos protocolos de tratamento à medida que os pacientes progredem na recuperação.

As características da Plataforma Clynx®, como captura de movimento e feedback postural, têm recebido feedback positivo tanto dos pacientes como dos fisioterapeutas relativamente à adesão e motivação dos pacientes (12).

Caracterização da Amostra

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê da Ética do Unidade Local de Saúde do Oeste (Referência: 17/CES/2022).

Os critérios de inclusão para este estudo visavam pacientes adultos que sofrem de alguma patologia do ombro que necessitariam de pelo menos dez sessões de telereabilitação.

Especificamente, o estudo visava pacientes que sofriam de dor no ombro ou tendinopatia (por exemplo, tendinite do supra espinhoso, tendinite calcificante do manguito rotador, rutura do supra espinhoso, manguito rotador ou da porção longa dos bíceps). Também era obrigatório que os pacientes tivessem uma conexão Wi-Fi, um PC Windows (8 ou superior) e um espaço livre de aproximadamente 1,5x2 metros ao redor do PC para as sessões em casa.



Figure 1 - Example of a gamified exercise, where the patient performs the shoulder abduction movement whilst interacting with a dynamic scenario and gamified elements (e.g. stars system and feedback sounds) to give information about performance execution of specific body movement and performance bar with information about amplitude degree of the specific angle in analysis, in this case amplitude of the abduction and adduction of shoulder. (12)

Figura 1 - Exemplo de um exercício gamificado, em que o paciente executa o movimento de abdução do ombro enquanto interage com um cenário dinâmico e elementos gamificados (por exemplo, sistema de estrelas e sons de feedback para dar informações sobre a execução do desempenho de um movimento corporal específico e barra de desempenho com informações sobre o grau de amplitude do ângulo específico em análise, neste caso a amplitude da abdução e adução do ombro. (12)

Data were collected from a total of 37 patients (28 of whom were female) undergoing chronic shoulder pain treatment. The patients voluntarily participated, had never used telerehabilitation solutions for physical therapy, and were aged between 21 and 79 years old, with an average of 52.16 ± 12.36 years old.

Study Protocol

Two physiotherapists were involved in the contact and follow-up with the participants throughout the study. The following protocol was executed for each enrolled patient.

Selection and Initial Appointment

As standard practice at the hospital, participants began with mesotherapy sessions (one to four) to reduce pain. A physiatrist then assessed the physical condition, the inclusion criteria (c.f. Sample Characterization) and recorded the patient's self-assessed level of pain.

Treatment Plan

The physiotherapists designed and customized a treatment plan for the selected patient, based on the information provided in the previous step. Hence, they selected a set of functional exercises from the available library and adjusted the exercise parameters (i.e., number of sets, number of repetitions, and rest time) as well as the difficulty level.

First Session & Setup Instructions

The physiotherapists met with the patient, introduced them to the technologies (cf. Figure 2) and detailed the function of the study. In this first session, the patient performed a complete session in the hospital, with the supervision of their physiotherapist. This first clinical observation of the physical performance of the patient was used by the physiotherapy team to fine-tune the previously defined exercise plan. The physiotherapists then provided the hardware kit and software installation guidelines to the patient, advising them to perform three to four home-based sessions per week. Thereafter, the patient could contact the physiotherapist by phone or e-mail as much as needed, with physiotherapists ensuring a close communication with each patient at least twice per week.

Os dados foram recolhidos de um total de 37 pacientes (dos quais 28 eram do sexo feminino) em tratamento de dor crónica no ombro. Os pacientes participaram voluntariamente, nunca tinham utilizado soluções de telereabilitação para fisioterapia e tinham idades compreendidas entre os 21 e os 79 anos, com uma média de $52,16 \pm 12,36$ anos.

Protocolo do Estudo

Dois fisioterapeutas estiveram envolvidos no contacto e acompanhamento dos participantes ao longo do estudo. O seguinte protocolo foi executado para cada paciente inscrito:

Seleção e Primeira Consulta

Como prática padrão no hospital, os participantes começaram com sessões de mesoterapia (de uma a quatro) para reduzir a dor. Em seguida, um fisiatra avaliou a sua condição física, os critérios de inclusão (conforme Caracterização da Amostra) e registou o nível de dor autoavaliado pelo paciente.

Plano de Tratamento

Os fisioterapeutas projetaram e personalizaram um plano de tratamento para os pacientes selecionados com base nas informações fornecidas na etapa anterior. Assim, foi selecionado um conjunto de exercícios funcionais da biblioteca disponível e os parâmetros (número de séries e repetições e tempo de descanso) ajustados, bem como o nível de dificuldade.

Primeira Sessão e Instruções de Configuração

Os fisioterapeutas encontraram-se com o paciente, apresentaram-lhes a plataforma (ilustrado na Figura 2) e explicaram o funcionamento do estudo. Nesta primeira sessão, o paciente teve uma sessão completa no hospital sob a supervisão do fisioterapeuta. Esta primeira observação clínica do desempenho físico do paciente foi usada pela equipa de fisioterapia para ajustar o plano de exercícios definido anteriormente. Em seguida, os fisioterapeutas forneceram o kit de hardware e as instruções de instalação do software aos pacientes, aconselhando-os a realizar três a quatro sessões em casa por semana. O paciente poderia entrar em contato com o fisioterapeuta por telefone ou e-mail sempre que necessário, sendo que os fisioterapeutas garantiam uma comunicação próxima com cada paciente pelo menos duas vezes por semana.

Home-based Therapy

Each patient was advised to complete approximately 15 sessions at home during an estimated maximum period of two months. The patients received an e-mail from the physiotherapists with the installation guidelines. Such guidelines advised the patient to download the Clynx® Platform Desktop Application to their PC for installation and set-up. Once the download was completed, the patient used their credentials to login into the application for their customized menu of exercises. Then, the session was followed according to the description in the Clynx® Platform section. The patients exercised autonomously, following their weekly sessions with their own schedule preference. At the end of each session, they self-reported their pain level (using the Visual Analogue Scale, 0-10) and effort level (using the Borg scale, 0 to 10) (15). The movement activity and the feedback data were then automatically summarized into session reports at the Clinical Portal, within which the physiotherapists could assess, adapt, and fine-tune the treatment plan of the patient at any given point. At the first home-based session, the platform automatically posed an optional Onboarding Form (see [Appendix](#) - Onboarding Form: Feedback on the Session using Clynx® Platform) to collect information on demographics and usability feedback.

Data Analysis Methodology

This section outlines the methods used to analyse the results obtained from this home-based study, which were divided into three main verticals, described throughout the following subsections.

Clinical Portal Data

Terapia em Casa

Cada paciente foi aconselhado a completar cerca de 15 sessões em casa durante um período máximo de dois meses. Os pacientes receberam um e-mail dos fisioterapeutas com as instruções de instalação. Essas diretrizes aconselharam o paciente a descarregar a aplicação da Plataforma Clynx® para o seu Computador Pessoal (PC), seguir as etapas de instalação e concluir a configuração. Depois de concluído o download, o paciente usou as suas credenciais para fazer login no aplicativo e encontrar o menu de exercícios personalizados. Em seguida, a sessão foi realizada de acordo com o que é descrito na secção Plataforma Clynx®. Os pacientes realizaram os exercícios autonomamente, seguindo as sessões semanais de acordo com as preferências de horário. No final de cada sessão, os pacientes autoavaliavam seu nível de dor (usando a Escala Visual Analógica, de 0 a 10) e o nível de esforço (usando a escala de Borg, de 0 a 10) (15). A atividade e os dados de feedback são então automaticamente resumidos em relatórios de sessão no Portal Clínico, que os fisioterapeutas podem utilizar para avaliar, adaptar e ajustar o plano de tratamento do paciente em qualquer momento. Na primeira sessão em casa, a plataforma automaticamente apresentou um Formulário de Integração opcional (consulte o [Apêndice](#): Formulário de Onboarding: Feedback das Sessões com a Clynx® Platform) para recolher informações demográficas e feedback sobre a usabilidade, informações demográficas e feedback sobre a usabilidade.

Metodologia de Análise de Dados

Esta secção descreve os métodos utilizados para analisar os resultados obtidos deste estudo, divididos em três verticais principais, descritos nas subsecções seguintes.

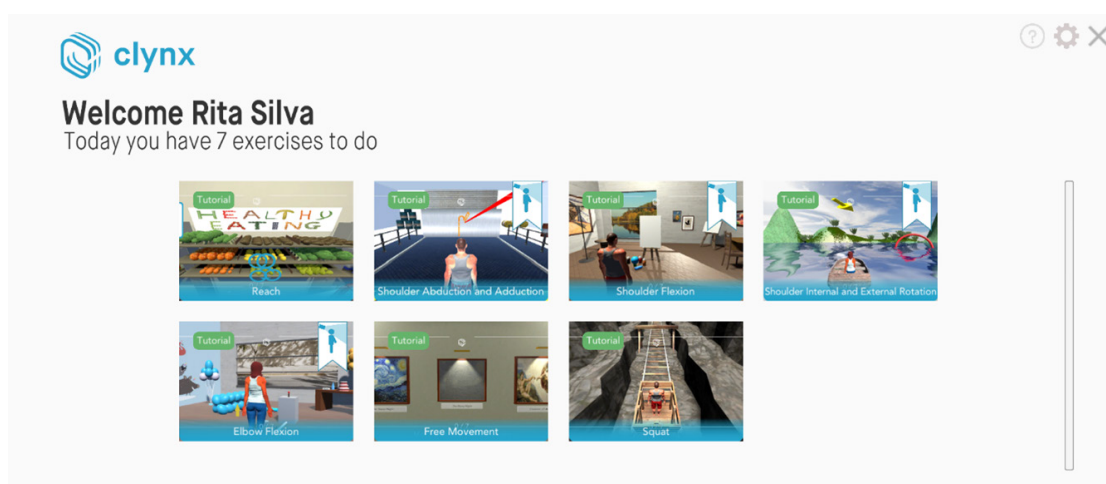


Figure 2 - Exercise plan menu visualized by the patient on log-in.

Figura 2 - Menu do plano de exercícios visualizado pelo paciente após o login.

The Clinical Portal is the primary interaction channel between the physiotherapist and the Clynx® Platform. This portal allows physiotherapists to create a profile for each patient, create a customized treatment plan and analyse their progress. Other actions are available for the physiotherapists within the Clinical Portal (e.g., deleting a patient profile or viewing the general dashboard), however, these were not considered, as they are not necessary for patient management for active physiotherapy treatments. Our data analysis is centred on:

Creating a patient profile: This action refers to the creation of a patient profile on the Clinical Portal (which involves collecting demographic details about the patient), as illustrated in the Figure 3. The average duration required for this action will be analysed and discussed.

Creating and modifying a patient's treatment plan: This action refers to the creation of a treatment plan for a given patient, involving selecting the most suitable exercises from the available library and optionally customizing them, can be updated at any time during the physiotherapy treatment (cf. Figure 4). Due to the relevance of this feature, the average duration a physiotherapist takes to modify or update a treatment plan for each patient, and in general, was examined. This time was calculated by checking the time between when the physiotherapist enters the "Create Plan" page and when the physiotherapist saves the new plan. Even though the creation and modification actions represent the same workflow, it is possible to divide them into a "creating the first

Dados do Portal Clínico

O Portal Clínico é o principal canal de interação entre o fisioterapeuta e a Plataforma Clynx®. Este portal é o que permite aos fisioterapeutas criar um perfil para cada paciente, criar um plano de tratamento personalizado e analisar o progresso dos mesmos. Existem outras ações que os fisioterapeutas podem realizar dentro do Portal Clínico (por exemplo, excluir o perfil de um paciente ou visualizar o painel geral), mas estes não foram considerados, uma vez que não são aplicáveis ao contexto do estudo. Mais detalhadamente, a análise de dados é centrada em:

Criação do perfil de paciente: Essa ação refere-se à criação de um perfil de paciente no Portal Clínico (que envolve a recolha de detalhes demográficos do paciente), conforme ilustrado na Figura 3. A duração média da ação será analisada e discutida.

Criação e modificação do plano de tratamento de um paciente: Esta ação refere-se à criação de um plano de tratamento para um paciente específico, que envolve a seleção dos exercícios mais adequados da biblioteca disponível e, opcionalmente, personalizá-los. O plano pode ser atualizado a qualquer momento durante o tratamento de fisioterapia (ilustrado na Figura 4). Devido à relevância deste recurso, a análise também inclui o tempo médio que um fisioterapeuta leva para modificar ou atualizar um plano de tratamento para cada paciente e, em geral. Este tempo é calculado através do tempo entre o fisioterapeuta aceder a página "Criar Plano" e o fisioterapeuta guardar o novo plano. Embora as ações de criação e modificação

Figure 3 - Page to create the profile of the patient made available by the physiotherapist in the Clinical Portal.
Figura 3 - Página para criar o perfil do paciente disponibilizado pelo fisioterapeuta no Portal Clínico.

plan" action, which only occurs once, and a "modify the current plan" action, which can happen more than once. This differentiation will be analysed below.

Analysing the patient progress: This action refers to the procedure of visiting the Clinical Portal, searching for a patient, and analysing their sessions. Each session done with the Clynx® Platform is recorded and then shown on the Clinical Portal. The physiotherapist can then check the sessions performed by each patient, which contain exercise-specific information (e.g., depicted in Figures 5 and 6), and make a more informed decision based on the progress of the patient. Note that this action is not mandatory. Regarding this action, we will analyse the average time a physiotherapist takes to review the patient progress.

For this last action, there is a data interpretation challenge, since, unlike the other actions where there is a clickable button that marks the completion of the task, for the analysis of the sessions there is no way of knowing when the physiotherapists stopped performing this action. For example, the physiotherapist could have opened the page to view the progress and left it open through the day, but that does not signify that the physiotherapists was actively reviewing the data for the (entire) duration. Moreover, this page is the default page when a physiotherapist clicks on a patient profile. If a physiotherapist wants to update the treatment plan, for example, they would still be redirected to the analysis page and would then need to change

representem o mesmo fluxo de trabalho, é possível dividir em: ação de "criação do primeiro plano", que ocorre apenas uma vez, e ação de "modificar o plano atual", que pode acontecer mais de uma vez. Essa diferenciação será analisada abaixo.

Análise do progresso do paciente: Esta ação refere-se ao procedimento de aceder ao Portal Clínico, procurar um paciente e analisar as sessões respetivas. Cada sessão feita com a Plataforma Clynx® é registada e, em seguida, exibida no Portal Clínico. O fisioterapeuta pode então verificar as sessões realizadas por cada paciente, que contêm informações específicas de exercícios (por exemplo, mostradas nas Figura 5 e 6), e tomar uma decisão informada com base no progresso do paciente. Observe-se que esta ação não é obrigatória. Relativamente a esta ação, analisaremos o tempo médio que um fisioterapeuta leva para rever o progresso do paciente.

Para esta última ação, existe um desafio de interpretação de dados, pois, ao contrário das outras ações onde existe um botão clicável que marca a conclusão da tarefa, para a análise das sessões não há como saber quando os fisioterapeutas realmente terminaram a ação. Por exemplo, o fisioterapeuta pode ter aberto a página para ver o progresso e tê-la deixado aberta durante o dia, mas isso não significa que os fisioterapeutas tenham analisado ativamente os dados durante todo o tempo. Além disso, esta página é a página inicial quando um fisioterapeuta clica no perfil de um paciente. Se um fisioterapeuta quiser atualizar o plano de tratamento, por exemplo,

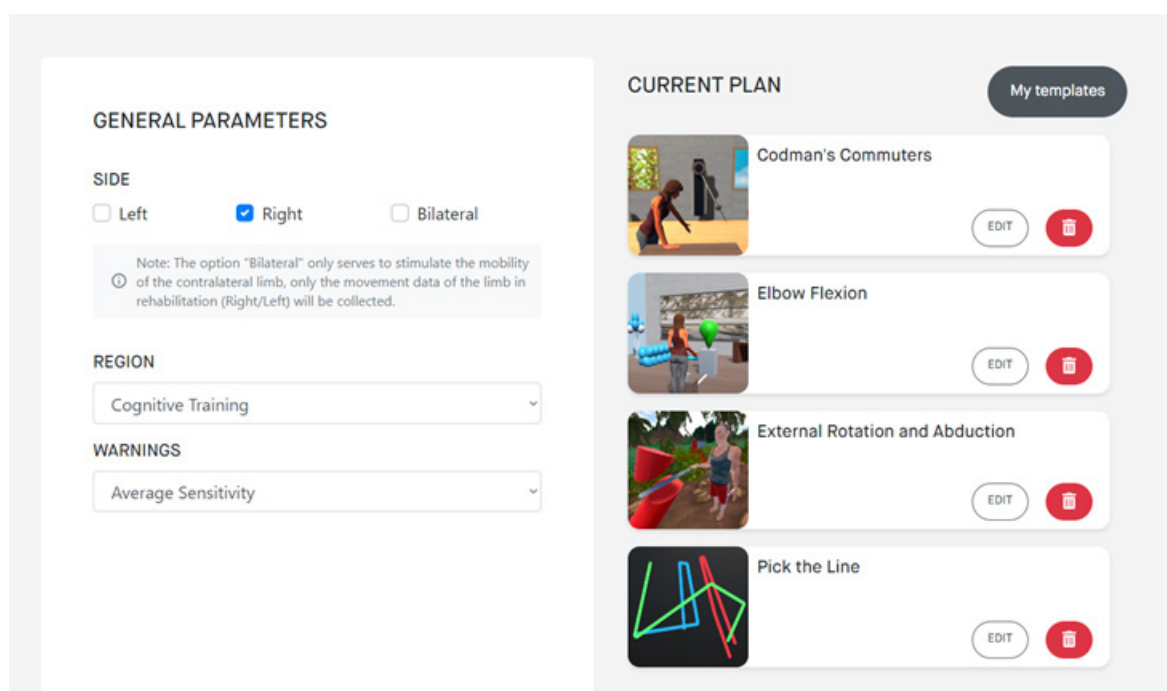


Figure 4 - Clinical Portal menu for creation of rehabilitation plans by physiotherapists.

Figura 4 - Menu do Portal Clínico para a criação de planos de reabilitação pelos fisioterapeutas.

the page. For the reasons presented above, a filter was applied when analysing the times for this action, where times that were lower than 5 seconds or over an hour were discarded. Moreover, visits to the progress page that occurred on the same day were only accounted as one visit.

Telerehabilitation Usability and Sessions

ainda seria redirecionado para a página de análise e, em seguida, teria de mudar de página. Por essas razões, foi aplicado um filtro ao analisar os tempos para esta ação, onde tempos inferiores a 5 segundos ou superiores a uma hora foram descartados. Além disso, as visitas à página de progresso que ocorreram no mesmo dia foram consideradas apenas como uma visita.

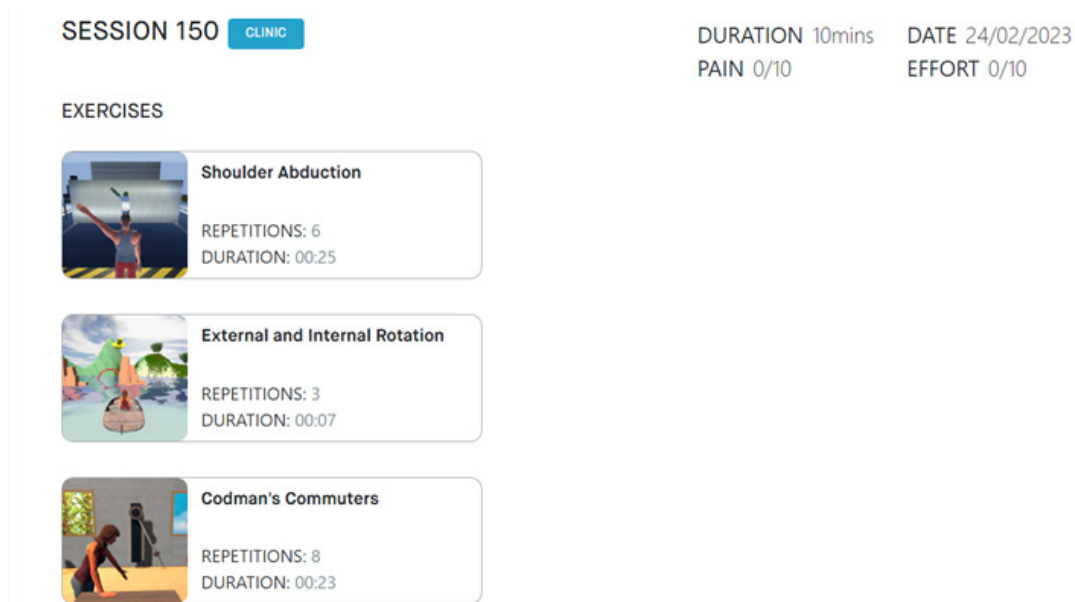


Figure 5 - Sessions' summary page through which physiotherapists can monitor the performance of the patient on the Clinical Portal.

Figura 5 - Página de resumo das sessões através da qual os fisioterapeutas podem monitorizar o desempenho do doente no Portal Clínico.



Figure 6 - Example of single session data presented in Clinical Portal for shoulder abduction movement.

Figura 6 - Exemplo de dados de uma única sessão apresentados no Clinical Portal para o movimento de abdução do ombro.

To assess the usefulness and easiness of deploying telerehabilitation, two questions from the Onboarding Form (c.f. *Onboarding Form: Feedback on the Session using Clynx® Platform*) were analysed, concerning the professional status of the patients and how long it took patients to install the Clynx® Platform on their PC. By delving into the professional status of patients, a connection between a flexible physiotherapy platform and its effective utilization among employed individuals could be established.

Moreover, the activity data regarding the interaction of the patients with the Clynx® Platform enabled the analysis of the total duration of the telerehabilitation treatment, the number of sessions, the number of exercises of each session, the weekly frequency, and the number and rate of sessions performed on weekends and after hours (i.e., sessions after 7 pm).

The total duration of the telerehabilitation treatment was calculated by identifying the first and last sessions performed by each patient, and then calculating the number of days in between those dates. The number of sessions was calculated using the number of logins registered by each participant throughout the treatment period, considering only sessions that had exercises completed, and there only one session was considered per day, even if the patient had two logins performed on the same day. Thus, the weekly frequency was computed by dividing the number of sessions by the treatment duration of each patient. The number of exercises of each session was calculated by analysing the exercises listed on the activity of each session, across the entire treatment.

The number and rate of sessions performed on weekends were computed by identifying the sessions that were performed on weekend days. The Pearson Coefficient was used to compute to assess the correlation between the age of the patient and the use of the platform during weekends.

Socio-Economic and Environmental Impact

Based on the responses received from patients on the *Onboarding Form*, we analysed the data to estimate the average distance between patients' homes and the hospital for different distance ranges. We also calculated the average number of kilometres travelled per in-person session, considering the average number of sessions per patient. Using this data, we were able to determine the total estimated kilometres saved since the beginning of the study through the implementation of telerehabilitation. 11

To comprehensively assess the impact of

Usabilidade da Telereabilitação e Sessões

Para avaliar a utilidade e facilidade de implantação da Telereabilitação, foram analisadas duas perguntas do *Formulário de Onboarding: Feedback das Sessões com a Clynx® Platform*, referentes à situação profissional dos pacientes e ao tempo que os pacientes levaram para instalar a Plataforma Clynx® nos seus PCs. Ao aprofundar a situação profissional dos pacientes, tornou-se possível estabelecer as vantagens da utilização de uma plataforma de fisioterapia flexível entre pessoas empregadas.

Além disso, os dados de atividade relacionados à interação dos pacientes com a Plataforma Clynx® permitiram a análise da duração total do tratamento de telereabilitação, o número de sessões, o número de exercícios de cada sessão, a frequência semanal e o número e taxa de sessões realizadas nos fins de semana e após o horário de expediente (ou seja, sessões após as 19h).

A duração total do tratamento foi calculada identificando as primeiras e últimas sessões realizadas por cada paciente e, em seguida, calculando o número de dias entre as datas. O número de sessões foi calculado usando o número de logins registados por cada participante durante o período de tratamento, tendo em conta apenas as sessões que tiveram exercícios concluídos, e apenas uma sessão foi considerada por dia, mesmo que o paciente tivesse realizado dois logins no mesmo dia. Portanto, a frequência semanal foi calculada dividindo o número de sessões pela duração do tratamento de cada paciente. O número de exercícios de cada sessão foi calculado analisando os exercícios listados na atividade de cada sessão, ao longo de todo o tratamento.

O número e a taxa de sessões realizadas nos fins de semana foram calculados identificando as sessões realizadas nos dias do fim de semana. Além disso, o Coeficiente de Pearson foi utilizado para avaliar a correlação entre a idade do paciente e o uso da plataforma nos fins de semana.

Impacto Socioeconómico e Ambiental

Com base nas respostas dos pacientes no *Formulário de Onboarding*, analisámos os dados para estimar a distância média entre as casas dos pacientes e o hospital para diferentes faixas de distância. Também calculámos o número médio de quilómetros percorridos por sessão presencial, tendo em consideração o número médio de sessões por paciente. Usando estes dados, pudemos determinar o total estimado de quilómetros economizados desde o

telerehabilitation, we further estimated the potential reduction in carbon oxide emissions associated with the reductions in the travelled distance. We utilized the average carbon oxides emissions from new cars in Portugal to calculate the estimated total emissions savings.

These calculations were extrapolated to encompass the entire patient population included in the study.

Results & Discussion

Clinical Portal

A summary of the activity of physiotherapists on the Clinic Portal is shown in Figure 7. Within the Clinical Portal, the data suggests that the activity of physiotherapists was divided mainly between planning and modifying the patients' session plans (22.5%) and analysing the data obtained from the sessions held by the patients (73.4%). The remaining time was distributed by the tasks of creating, editing, or deleting patients' profiles (4.1%). Nevertheless, the intervention of physiotherapists in the process of rehabilitation was dynamic and variable; they distributed their time between these tasks according to the needs of each patient. Throughout the entire treatment process in which the Clynx® Platform is used, on average per patient, the physiotherapist used the Clinical Portal for 43.3 minutes. Each patient required a personalized intervention tailored to

início do estudo, como resultado da implementação da telereabilitação.

Para avaliar o impacto da telereabilitação, estimámos ainda a redução potencial nas emissões de óxidos de carbono associadas à redução da distância percorrida. Utilizámos as emissões médias de óxidos de carbono de carros novos em Portugal para calcular as poupanças totais estimadas de emissões.

Esses cálculos foram extrapolados para abranger toda a população de pacientes incluídos no estudo.

Resultados & Discussão

Portal Clínico

Uma síntese da atividade dos fisioterapeutas no Portal Clínico é mostrada na Figura 7. No Portal Clínico, os dados sugerem que a atividade dos fisioterapeutas é dividida principalmente entre o planeamento e a modificação dos planos de sessão dos pacientes (22,5%) e a análise dos dados obtidos das sessões realizadas pelos pacientes (73,4%). O tempo restante é distribuído pelas tarefas de criar, editar ou excluir perfis de pacientes (4,1%). No entanto, a intervenção dos fisioterapeutas no processo de reabilitação é dinâmica e variável; eles distribuem o seu tempo entre essas tarefas de acordo com as necessidades de cada paciente. Durante todo o processo de tratamento em que a Plataforma Clynx® é utilizada, o fisioterapeuta usou o Portal Clínico por 43,3 minutos em média por

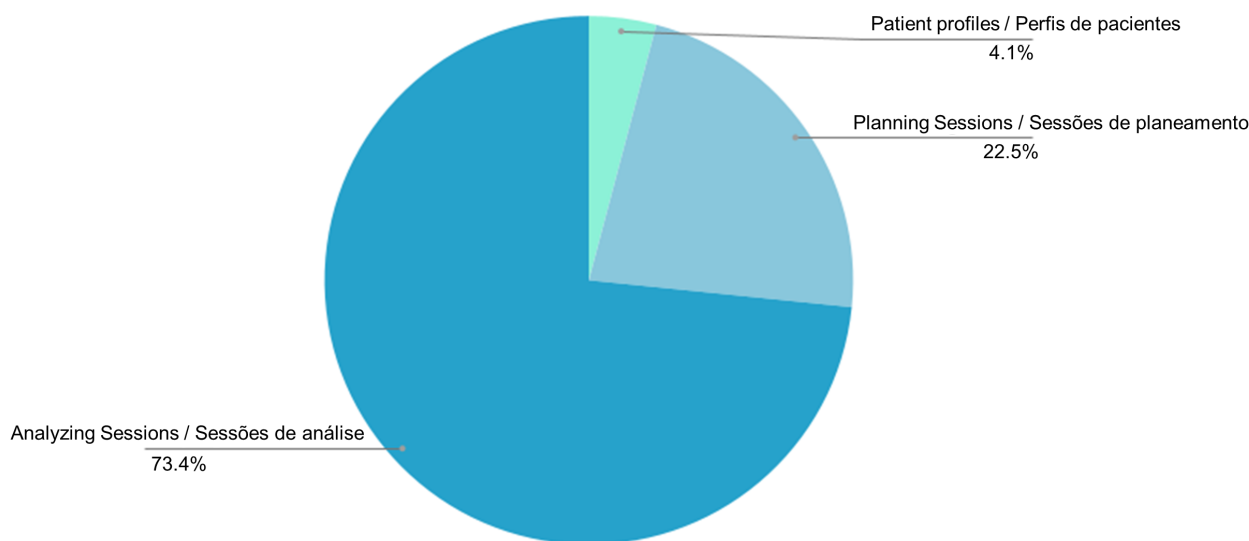


Figure 7 - Distribution of physiotherapists' time when interacting with the Clinical Portal.

Figura 7 - Distribuição do tempo de interação dos fisioterapeutas com o Portal Clínico.

their specific needs, resulting in varying durations of treatment for each.

Creating a Patient Profile

On average, a physiotherapist took 3.43 ± 4.49 minutes to create a profile for each patient. The high standard deviation is due to the presence of outliers. For example, the maximum time was 16.78 minutes, and the minimum was 0.38 minutes, thus obtaining a median value of 1.19 minutes. The high creation time could be due to several reasons, for example, not having instant access to the patient information such as their email and demographics.

Creating and Updating the Treatment Plan

Creating or modifying a treatment plan took on average 5.34 ± 5.52 minutes and a physiotherapist performed this action on average 3.71 ± 1.91 times per patient. Physiotherapists took on average 3.43 ± 4.49 minutes to create the first plan and 6.14 ± 8.80 minutes to modify existing plans. It is also possible to analyse the total time physiotherapists took to create or update a treatment plan for a given patient, which was 18.76 ± 23.87 minutes. Once again, these results present a high standard deviation, which could be explained by the high number of possible actions within creating or updating a treatment plan, although the median obtained was 9.56 minutes.

Analysing Patients Progress

Each time the physiotherapists visited the patient page to analyse their progress, they spent 3.17 ± 2.61 minutes on average analysing the information. This time represents a single visit to the Clinical Portal. During the treatment of a given patient, the physiotherapist visited their progress page 19.5 ± 5.6 times on average, which amounts to a total of 61.16 ± 48.21 minutes spent analysing the patient progress. A view of the average duration and number of visits to observe a patient's progress presented in Figure 8.

As shown in Figure 8, most of the visits (83%) last up to 5 minutes, which compared to conventional physiotherapy, is smaller or similar. Considering the duration of the treatment for each patient, it is also possible to observe that physiotherapists visit the patients' progress page every 3.41 ± 0.97 days.

paciente. Cada paciente requer uma intervenção personalizada adaptada às suas necessidades específicas, resultando em durações variáveis para o tratamento de cada indivíduo.

Criação do Perfil de Paciente

Em média, um fisioterapeuta levou $3,43 \pm 4,49$ minutos para criar um perfil para cada paciente. O alto desvio padrão deve-se à presença de valores atípicos. Por exemplo, o tempo máximo foi de 16,78 minutos e o mínimo foi de 0,38 minutos, obtendo assim uma mediana de 1,19 minutos. O elevado tempo de criação pode ser, por exemplo, devido a não ter acesso instantâneo às informações do paciente, como seu e-mail e demografia, ou outros fatores.

Criação e Atualização do Plano de Tratamento

Criar ou modificar um plano de tratamento levou em média $5,34 \pm 5,52$ minutos e um dos fisioterapeutas realizou esta ação em média $3,71 \pm 1,91$ vezes por paciente. Particularmente, os fisioterapeutas levaram em média $3,43 \pm 4,49$ minutos para criar o primeiro plano e $6,14 \pm 8,80$ minutos para modificar o plano atual. Também é possível analisar o tempo total que os fisioterapeutas levaram para criar ou atualizar um plano de tratamento para um determinado paciente, que é de $18,76 \pm 23,87$ minutos. Mais uma vez, esses resultados apresentam um alto desvio padrão, que pode ser explicado pelo alto número de possíveis ações ao criar ou atualizar um plano de tratamento, embora a mediana obtida tenha sido de 9,56 minutos.

Análise do Progresso dos Pacientes

Cada vez que os fisioterapeutas visitam a página do paciente para analisar o seu progresso, passam em média $3,17 \pm 2,61$ minutos a analisar as informações. Esse tempo representa uma visita única ao Portal Clínico. Durante o tratamento de um determinado paciente, o fisioterapeuta visitou a página de progresso do paciente $19,5 \pm 5,6$ vezes em média, o que equivale a um total de $61,16 \pm 48,21$ minutos despendidos a analisar o progresso do paciente. A Figura 8 apresenta uma visão da duração média e do número de visitas para observar a evolução de um paciente.

Como mostrado na Figura 8, a maioria das visitas (83%) dura até 5 minutos, que comparado com a terapia convencional, é um período reduzido ou similar. Levando em conta a duração do tratamento para cada paciente, também é possível observar que os fisioterapeutas visitam a página de progresso dos pacientes a cada $3,41 \pm 0,97$ dias.

Considering the duration of the patient's treatment, the data shown in Figure 9 suggests that there was a relationship between the duration of treatment and the number of visits in the progress page. For treatments with long duration (more than 50 days), the number of visits to the progress page was virtually constant regardless of the duration. For treatments with duration of less than 50 days, the visits are linearly proportional. This pattern suggests that for long term treatments, the frequency of sessions decreases, leading physiotherapists to regularise their visits to the platform in this type of situation. On the other hand, the sessions that lasted the normal

Considerando a duração do tratamento do paciente, os dados mostrados na Figura 9 sugerem que existe uma correlação entre a duração do tratamento e o número de visitas à página de progresso. Para tratamentos com longa duração (mais de 50 dias), o número de visitas à página de progresso é praticamente constante, independentemente da duração. Para tratamentos com duração inferior a 50 dias, as visitas são proporcionalmente lineares. Este padrão sugere que para tratamentos de longo prazo, a frequência das sessões diminui, levando os fisioterapeutas a regularizar as suas visitas à plataforma neste tipo de situação. Por outro lado,

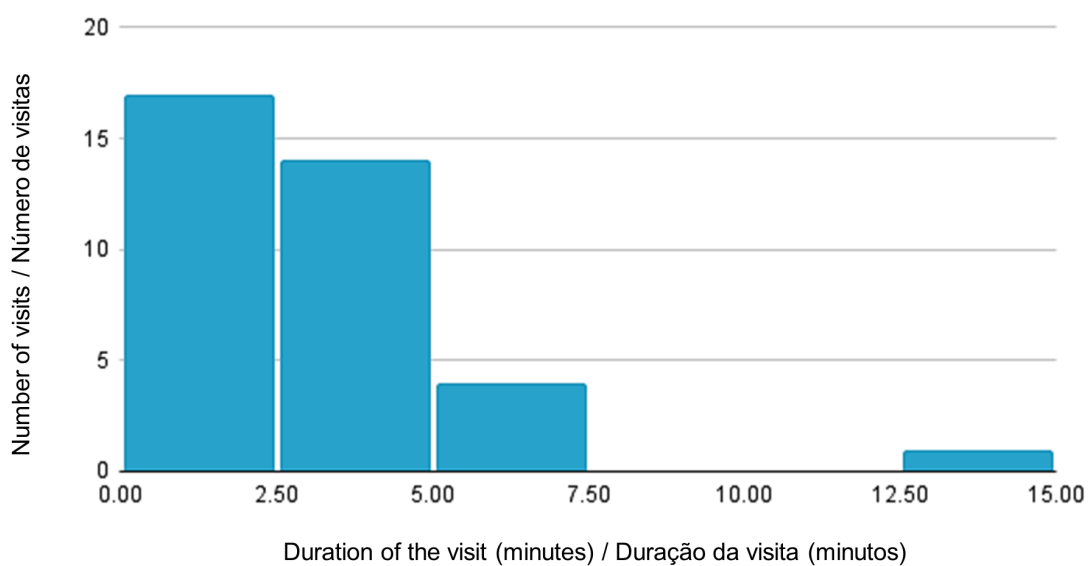


Figure 8 - Average time spent on a single visit to analyze patient progress.
Figura 8 - O tempo médio gasto numa única visita para analisar o progresso do paciente.

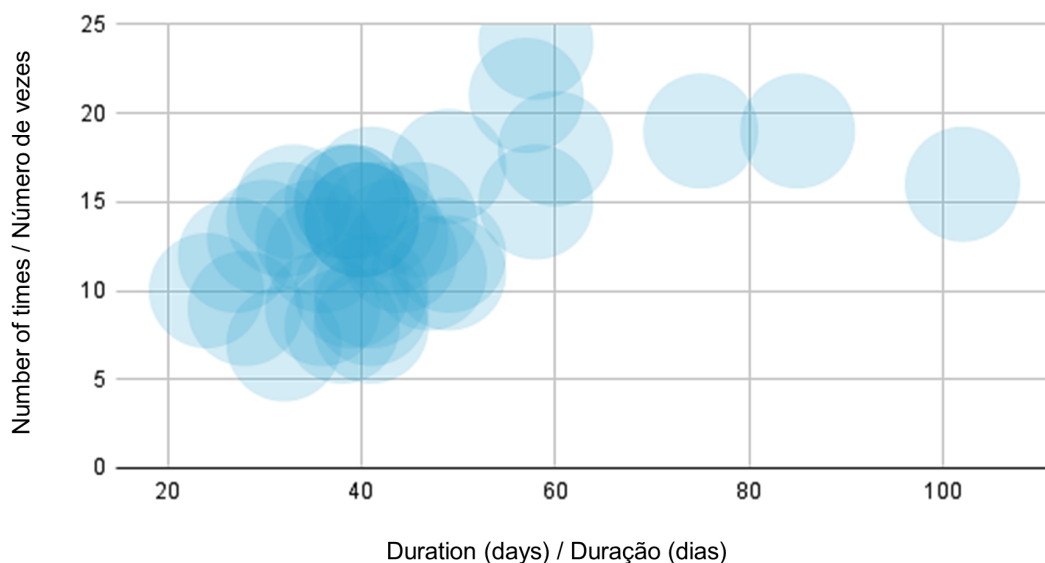


Figure 9 - Comparison of duration of treatment with patient progress analysis
Figura 9 - Comparação da duração do tratamento com o análise do progresso do paciente.

period (10–50 days) promote fewer regular visits by the physiotherapists, which always varied between 7 and 17 visits to the progress page.

The main challenge of the telerehabilitation approach using the Clynx® Platform was the lack of real-time follow-up during the session, for which the application of this solution is recommended for patients with enough autonomy. Moreover, considering the real-time feedback provided by the Clynx® Platform, physiotherapists have greater flexibility to fit post-session feedback into their work schedule, ensuring a good quality in the execution of the exercises.

Moreover, this study indicated that the use of the platform allowed the intervention of physiotherapists to remain dynamic and variable, where the analysis and planning of the sessions are the tasks most performed by the physiotherapists. In fact, the high standard deviation presented in the results of averages of time of analysis, planning and patient creation, and the variability of results obtained in the number of times the physiotherapist visits the data of patients with treatments of less than 50 days, showed that the physiotherapy intervention through telerehabilitation was also a differentiated intervention and adjusted to each patient and type of treatment.

Telerehabilitation Usability and Sessions

The telerehabilitation sessions had an average duration of 1.49 ± 0.52 months (minimum: 0.8 and maximum: 3.40)*. Each patient performed an average of 15.22 ± 2.90 sessions (minimum: 10 and maximum: 25) throughout their home-based therapy, and an average weekly frequency of 2.57 ± 0.74 sessions (minimum: 1.03 and maximum: 4.38). Moreover, each session included an average number of 7.16 ± 1.4 clinical exercises (minimum: 4 and maximum: 12). All these factors were equivalent to the conventional in-person physiotherapy treatments.

As depicted in the bar graphic of Figure 10, it is possible to observe that the large majority of patients had an average weekly frequency within two and three sessions per week, i.e. equivalent to the conventional in-person physiotherapy treatments (16-18). Furthermore, there were more patients registering a weekly frequency of sessions above the conventional average (more than three weekly sessions) than below it (less than two weekly sessions), which suggests that

* In this section, data averages are presented along with their respective standard deviation, minimum and maximum values, for improved contextualization.

as sessões incluídas em tratamento com duração média (entre 10 e 50 dias) promovem visitas não tão regulares pelos fisioterapeutas, que variam sempre entre 7 e 17 visitas à página de progresso.

O principal desafio da abordagem da telereabilitação usando a Plataforma Clynx® foi a falta de acompanhamento em tempo real durante a sessão, pelo que a aplicação desta solução é recomendada para pacientes com autonomia suficiente. Além disso, considerando o feedback em tempo real fornecido pela Plataforma Clynx®, o fisioterapeuta tem maior flexibilidade para alocar a providência de feedback pós-sessão na sua agenda de trabalho, garantindo uma boa qualidade na execução dos exercícios.

Além disso, este estudo evidencia que a Plataforma Clynx® permitiu que a intervenção dos fisioterapeutas permanecesse dinâmica e variável, onde as tarefas de análise e planeamento das sessões são as mais realizadas pelos mesmos. De facto, o alto desvio padrão apresentado nos resultados das médias de tempo de análise, planeamento e criação do paciente, e a variabilidade dos resultados obtidos no número de vezes que o fisioterapeuta visita os dados dos pacientes com tratamentos de menos de 50 dias, mostram que a intervenção em fisioterapia através da telereabilitação também é uma intervenção diferenciada e ajustada a cada paciente e tipo de tratamento.

Usabilidade da Telereabilitação e Sessões

As sessões de telereabilitação tiveram uma duração média de $1,49 \pm 0,52$ meses (mínimo: 0,8 e máximo: 3,40)*. Cada paciente realizou em média $15,22 \pm 2,90$ sessões (mínimo: 10 e máximo: 25) ao longo da sua terapia domiciliar, com uma frequência semanal média de $2,57 \pm 0,74$ sessões (mínimo: 1,03 e máximo: 4,38). Além disso, cada sessão incluiu um número médio de $7,16 \pm 1,4$ exercícios clínicos (mínimo: 4 e máximo: 12). Todos estes fatores são equivalentes aos da fisioterapia convencional presencial.

Como mostrado no gráfico de barras da Figura 10, é possível observar que a grande maioria dos pacientes teve uma frequência semanal média entre duas e três sessões por semana, ou seja, equivalente aos tratamentos convencionais de fisioterapia presencial (16-18). Além disso, houve mais pacientes a registar uma frequência semanal de sessões acima da média convencional (mais de três sessões semanais) do que abaixo da mesma (menos de duas sessões semanais),

* Nesta secção, as médias dos dados são apresentadas juntamente com o respetivo desvio padrão, valores mínimos e máximos, para uma melhor contextualização.

the Clynx® Platform is effective in promoting that the patients become more active on their health journey, through more autonomy and a better exercise rate.

The analysis on the platform use revealed that 36.85% ± 28.83% of the sessions (minimum: 0% and maximum: 88.2%) were done on weekends and after hours.

o que sugere que a Plataforma Clynx® é eficaz em promover que os pacientes se tornem mais ativos na sua jornada de saúde, através de mais autonomia e uma prática de exercício mais frequente.

A análise sobre o uso da plataforma revelou que 36,85% ± 28,83% das sessões (mínimo: 0% e máximo: 88,2%) foram realizadas nos fins de semana e fora do horário de expediente.

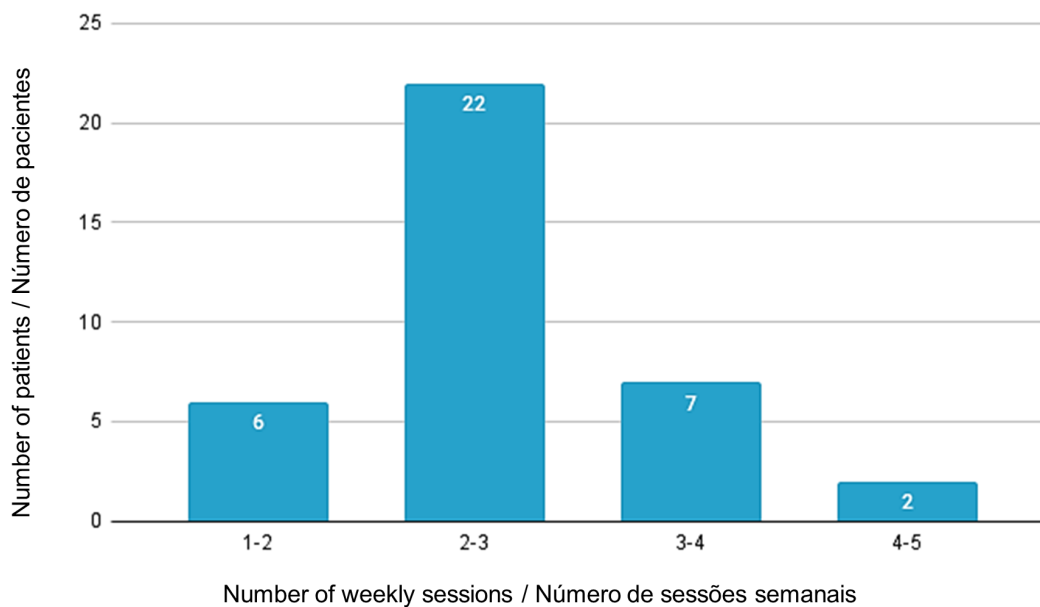


Figure 10 - Average number of weekly sessions per patient.
Figura 10 - O número médio de sessões semanais por paciente.

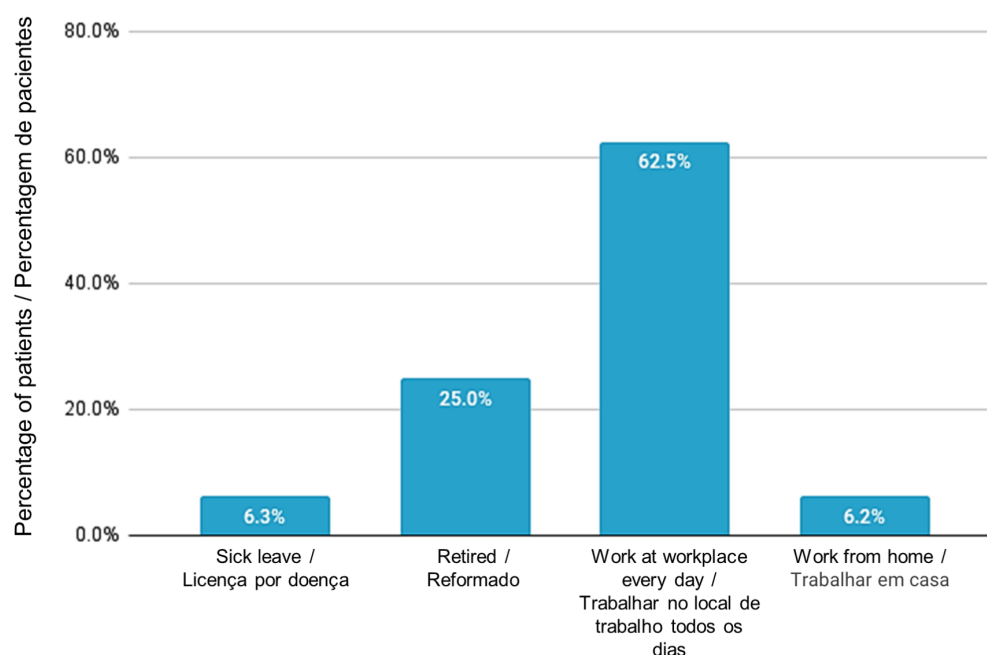


Figure 11 - Distribution of the Patients according to their current professional status.
Figura 11 - Distribuição dos Pacientes de acordo com o seu estatuto profissional atual.

In fact, as shown in Figure 11, most of the patients reconciled their treatments with an active professional activity, the reason for which the schedule flexibility was revealed to be useful. These findings were confirmed in the Final Form of optional feedback, in which all participants that were professionally active reported that the "flexibility to choose my schedule" was the greatest advantage of the telerehabilitation. Furthermore, some patients also reported the advantage of "not needing to be absent from work". The Pearson coefficient revealed a correlation of -23.22% between the age of the patient and the use of the platform during weekends and after hours. This inverse correlation showed that the use of sessions on weekends and after hours was more prevalent amongst younger patients, which points to the same suggestion that the approach is supportive to patients that need to reconcile their recovery with an active professional life. Concerning the patients that reported to be retired, they agreed on the convenience of not needing to leave their house and commute to the hospital. For the patients, this type of implementation allows sessions to be held at a location of their choice and at times of their choice.

Socio-Economic and Environmental Impact

In the conventional practice, physiotherapy sessions occur within hospitals or rehabilitation clinics, where patients are under the guidance of physiotherapists who assist them in performing prescribed exercises tailored to promote their recovery from specific health conditions. This approach requires that physiotherapists dedicate their time to direct patient care, as well as pre-session planning and on-session analysis.

Telerehabilitation in physiotherapy uses technology to remotely assist individuals with mobility challenges, increasing accessibility (19, 20). However, it is important to note that telerehabilitation may not be suitable for patients with acute medical conditions that may restrict or contraindicate exercise, bedridden patients, those experiencing acute joint pain, or individuals requiring exercise assistance.

Despite not being physically present during real-time physical therapy sessions, physiotherapists actively engage in pre-session planning and post-session analysis within this telerehabilitation framework.

De facto, como mostra a Figura 11, a maioria dos pacientes conciliava os seus tratamentos com uma atividade profissional ativa, razão pela qual a flexibilidade de horário se revelou útil. Estas constatações foram confirmadas no Formulário Final de feedback facultativo, no qual todos os participantes que são profissionalmente activos referiram que a "flexibilidade de escolher o meu horário" era a maior vantagem da telereabilitação. Para além disso, alguns doentes também referem a vantagem de "não precisar de faltar ao trabalho". O coeficiente de Pearson revelou uma correlação de -23,22% entre a idade do doente e a utilização da plataforma durante os fins-de-semana e fora de horas. Esta correlação inversa mostra que a utilização das sessões ao fim de semana e em horário pós-laboral é mais prevalente entre os doentes mais jovens, o que aponta para a mesma sugestão de que a abordagem é favorável aos pacientes que necessitam de conciliar a sua recuperação com uma vida profissional ativa. Quanto aos pacientes que relataram ser aposentados, eles concordaram com a comodidade de não precisar sair de casa e se deslocar até o hospital. Para os pacientes, este tipo de implementação permite que as sessões sejam realizadas num local e num horário à sua escolha.

Impacto Socioeconómico e Ambiental

Na prática convencional, as sessões de fisioterapia ocorrem em hospitais ou clínicas de reabilitação, onde os pacientes estão sob a orientação de fisioterapeutas que os auxiliam na realização de exercícios prescritos como medida para promover a sua recuperação de condições de saúde específicas. Esta abordagem requer que os fisioterapeutas dediquem o seu tempo ao atendimento direto ao paciente, bem como ao planeamento pré-sessão e à análise durante a sessão.

A telereabilitação em fisioterapia utiliza tecnologia para auxiliar de forma remota indivíduos com dificuldades de mobilidade, melhorando a acessibilidade (19, 20).

No entanto, é importante notar que a telereabilitação pode não ser adequada para pacientes com condições médicas agudas que podem restringir ou contraindicar o exercício, pacientes acamados, aqueles que experimentam dor articular aguda ou indivíduos que requerem assistência para o exercício.

Apesar de não estarem fisicamente presentes durante as sessões de fisioterapia em tempo real, os fisioterapeutas envolvem-se ativamente no planeamento pré-sessão e na análise pós-sessão dentro deste quadro de telereabilitação.

Based on feedback from the physiotherapy team, it has been consistently observed that, in in-person sessions, health professionals dedicate approximately 45 minutes to direct patient care, which includes on-session analysis, for each of the five patients with less acute conditions. Over the course of 15 treatment sessions, the total time spent on patient care accumulates to 135 minutes.

Our findings reveal that with the utilization of telerehabilitation, physiotherapists dedicate an average of 61.16 ± 48.21 minutes (i.e., 54.70% of the total conventional time of 135 minutes) to assessing patient progress during a treatment plan. These findings are depicted in Figure 12. Despite not being physically present during these treatment sessions, physiotherapists utilising the Clynx® Platform analyse patient progress after each session, akin to the progress analysis conducted during conventional physiotherapy sessions with direct patient care.

As a result, the utilisation of the Clynx® Platform, when compared to conventional physiotherapy methods, enable physiotherapists to have approximately 45.30% more time to define the work plan for their patients or assist more patients.

Utilising the Clynx® Platform also offers the physiotherapist a significant advantage in terms of time efficiency when compared to in-person sessions. In a traditional setting, if a patient misses an in-person treatment, the physiotherapist's time is often underutilized, as they can only perform other tasks instead of seeing another patient. However, with the Clynx® Platform, the physiotherapist can

Com base no feedback da equipa de fisioterapia, foi observado consistentemente que, nas sessões convencionais e presenciais, os profissionais de saúde dedicam aproximadamente 45 minutos ao atendimento direto ao paciente, a cinco pacientes em simultâneo. Ao longo de 15 sessões de tratamento, o tempo total gasto no atendimento ao paciente acumula-se em 135 minutos.

Os nossos resultados revelam que com a utilização da telereabilitação, os fisioterapeutas dedicam em média 61.16 ± 48.21 minutos (ou seja, 54.70% do tempo total convencional de 135 minutos) para avaliar o progresso do paciente durante um plano de tratamento. Estes resultados são mostrados na Figura 12. Apesar de não estarem fisicamente presentes durante as sessões de tratamento, os fisioterapeutas que utilizam a Plataforma Clynx®, analisam o progresso do paciente após cada sessão, semelhante à análise de progresso realizada durante as sessões convencionais de fisioterapia com atendimento direto ao paciente.

Como resultado, a utilização da Plataforma Clynx®, quando comparada aos métodos convencionais de fisioterapia, permite que os fisioterapeutas tenham aproximadamente 45.30% mais tempo para definir o plano de tratamento para os seus pacientes ou assistir mais pacientes.

A utilização da Plataforma Clynx® também oferece ao fisioterapeuta uma vantagem significativa em termos de eficiência de tempo quando comparada às sessões presenciais. Num ambiente tradicional, se um paciente falta a um tratamento presencial, o tempo do fisioterapeuta é frequentemente subutilizado,

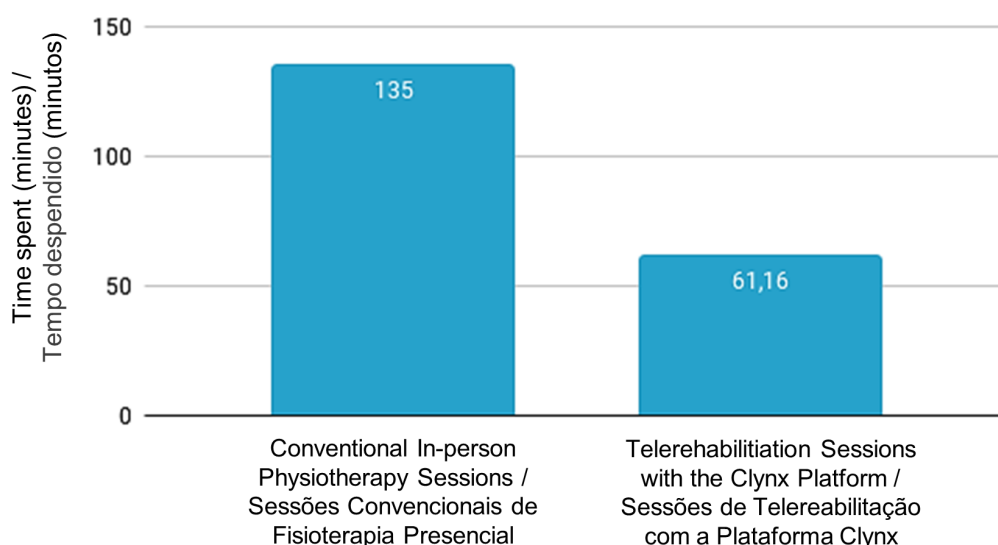


Figure 12 - Distribution of time spent by physiotherapists in treatment plan analysis for less acute patients.

Figura 12 - Distribuição do tempo despendido pelos fisioterapeutas na análise do plano de tratamento dos pacientes menos agudos.

simultaneously work with multiple patients, ensuring optimal time utilisation. This flexibility gives the therapist more time to review therapeutic plans, provide motivation, and attend to other patients on the platform. This increased productivity and effectiveness not only benefits the patients by optimising their care, but also benefits the healthcare provider and hospital management by maximising resource allocation and overall operational efficiency. By enabling time savings, the Clynx® Platform empowers physiotherapists to deliver care to multiple patients simultaneously, allowing them to redirect their efforts towards individuals with more severe conditions that necessitate conventional therapy. This includes patients who are bedridden, experiencing acute joint pain, or in need of exercise assistance. Consequently, this serves as compelling evidence of the economic benefits that telerehabilitation brings to healthcare institutions.

An environmental study was conducted to assess the travel savings in terms of distance and carbon oxides emissions achieved by patients who opted for telerehabilitation instead of attending in-person physiotherapy sessions at hospitals or clinics using the Clynx® Platform. While the patients had the option to share their travel data, which is illustrated in Figure 13, an average estimation was made for the distance travelled and carbon oxides emissions per in-person session. This estimation was then extrapolated for the 37 patients included in the study.

pois só pode realizar outras tarefas em vez de atender outro paciente. No entanto, com a Plataforma Clynx®, o fisioterapeuta pode trabalhar simultaneamente com vários pacientes, garantindo a utilização ideal do tempo. A flexibilidade dá ao terapeuta mais tempo para rever planos terapêuticos, fornecer motivação e atender outros pacientes na plataforma. O aumento de produtividade e eficácia beneficia não apenas os pacientes, otimizando os seus cuidados, mas também o hospital/clínica e a gestão hospitalar, maximizando a alocação de recursos e a eficiência operacional geral. Ao permitir a poupança de tempo, a Plataforma Clynx® capacita os fisioterapeutas a prestar cuidados a vários pacientes simultaneamente, permitindo que eles redirecionem seus esforços para indivíduos com condições mais graves que necessitam de terapia convencional. Isso inclui pacientes que estão acamados, com dor articular aguda ou com necessidade de assistência para o exercício. Consequentemente, constitui-se uma evidência convincente dos benefícios económicos que a telereabilitação traz para as instituições de saúde.

Um estudo ambiental foi realizado para avaliar a poupança relacionada com a viagem para o hospital em termos de distância e emissões de óxidos de carbono alcançadas pelos pacientes que optaram pela telereabilitação em vez de frequentar sessões presenciais de fisioterapia em hospitais ou clínicas. Partindo dos dados partilhados pelos pacientes, ilustrados na Figura 13, foi feita uma estimativa média para a distância percorrida e as emissões de óxidos de carbono por sessão presencial.

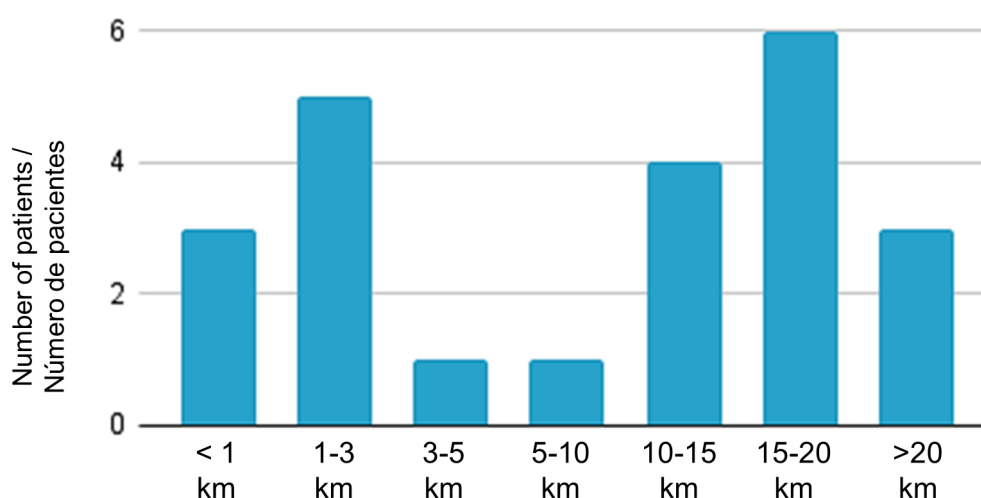


Figure 13 - Distribution of patients based on the distance between their homes and the hospital or clinic.
Figura 13 - Distribuição dos pacientes com base na distância entre as suas casas e o hospital ou clínica.

Table 1 - Estimation of travel savings using telerehabilitation rather than in-person sessions for study participants.

Tabela 1 - Estimativa da poupança de deslocações utilizando a telereabilitação em vez de sessões presenciais para os participantes no estudo.

	Estimation of kilometres savings / Estimativa da poupança de quilómetros	Estimation of carbon oxides emissions savings / Estimativa da poupança de emissões de óxidos de carbono
Average per in-person session / Média por sessão presencial	22.0 km	2.4 kg
Total	12,210.0 km	1307.7 kg

If these 37 patients were to switch to telerehabilitation, the potential total travel distance saved would be 12,210.0 kilometres. This reduction in travel would result in a significant decrease in carbon oxides emissions, estimated to be more than 1.3 tons. The findings and conclusions derived from the collected data can be found in Table 1.

This study underscores the significant positive environmental impact of telerehabilitation, a pivotal contributor to advancing sustainability in healthcare. By actively reducing carbon emissions, telerehabilitation plays a vital role in climate action. Specifically, it substantially curtails the need for patients to travel to physical healthcare facilities, resulting in a remarkable reduction in transportation-related carbon emissions. In this study alone, telerehabilitation saved 1,307.7 kilograms of carbon oxide emissions, positively impacting our environment.

Conclusions

Telerehabilitation emerges as a promising solution with far-reaching potential to address clinical, social, economic, and environmental challenges in the field of physiotherapy. Patients appreciate the flexibility it offers, enabling them to seamlessly integrate physiotherapy into their busy lives without sacrificing their professional commitments. For physiotherapists, it presents an opportunity for more efficient time management and reallocation of resources, potentially reducing waiting lists in public hospitals and improving patient care. From an environmental perspective, telerehabilitation contributes to sustainability by decreasing patient flow in hospitals and clinics, reducing travel distances, and lowering carbon emissions. This positive impact on the

Se estes 37 doentes mudassem para a telereabilitação, a distância total potencial de viagem poupada seria de 12.210,0 quilómetros. Esta redução em viagens resultaria numa diminuição significativa nas emissões de óxidos de carbono, estimada em mais de 1,3 toneladas. As conclusões derivadas dos dados recolhidos podem ser encontradas na Tabela 1.

Este estudo destaca o significativo impacto ambiental positivo da telereabilitação, fundamental para o avanço da sustentabilidade na saúde. Ao reduzir ativamente as emissões de carbono, a telereabilitação desempenha um papel vital na ação climática. Especificamente, reduz substancialmente a necessidade de os pacientes viajarem para instalações físicas de saúde, resultando numa redução nas emissões de carbono relacionadas ao transporte. Neste estudo, a telereabilitação economizou 1 307,7 quilogramas de emissões de óxido de carbono, com um impacto positivo no nosso ambiente.

Conclusões

A telereabilitação surge como uma solução promissora com potencial para enfrentar desafios clínicos, sociais, económicos e ambientais no campo da fisioterapia, a longo prazo. Os pacientes apreciam a flexibilidade que ela oferece, permitindo que eles integrem facilmente a fisioterapia em suas vidas ocupadas sem sacrificar seus compromissos profissionais. Para os fisioterapeutas, ela apresenta uma oportunidade para gerenciamento de tempo mais eficiente e realocação de recursos, potencialmente reduzindo as listas de espera em hospitais públicos e melhorando o atendimento ao paciente. Do ponto de vista ambiental, a telereabilitação contribui para a sustentabilidade, diminuindo o fluxo de pacientes em hospitais

healthcare system's carbon footprint is a significant step toward a greener, more environmentally responsible healthcare delivery system.

However, it is essential to acknowledge that the adoption of telerehabilitation tools comes with a learning curve. The technology is still relatively new, and there may be challenges related to software installation, setup, and adaptation, especially for healthcare providers and users who are less familiar with technological processes. Overcoming these challenges will require dedication in terms of time and effort to ensure a smooth transition and effective utilization of these valuable tools. As we continue to refine and integrate telehealth into physiotherapy practice, its potential to address these complex issues remains a beacon of hope for the future of healthcare.

The study has limitations worth noting. Firstly, the sample size was relatively small, focusing solely on patients undergoing shoulder pain treatment. There is also the need for more comprehensive socioeconomic and environmental analyses, including additional key performance indicators for managing rehabilitation services in hospitals. Moreover, future research should delve into the electronic device footprint and explore the clinical impact of these findings, thereby providing a more holistic understanding of telerehabilitation's efficacy and potential implications.

Authors Contributions Statement

Conceptualization, I.E.L., G.D., G.C. and J.F.P.; methodology, I.E.L., G.D., G.C. and J.F.P.; software, G.D., G.C.; validation, I.E.L., G.D., G.C. and J.F.P.; formal analysis, I.E.L., G.D., G.C. and J.F.P.; investigation, I.E.L., G.D., G.C. and J.F.P.; resources, M.L.A., P.C., G.C. and J.F.P.; data curation, G.D., G.C. and J.F.P.; writing---original draft preparation, I.E.L., G.D., G.C. and J.F.P.; writing---review and editing, M.L.A., P.C. and H.P.S.; visualization, I.E.L., G.D., G.C. and J.F.P.; supervision, M.L.A., H.P.S. and J.F.P.; project administration, M.L.A. and J.F.P..

e clínicas, reduzindo as distâncias percorridas e diminuindo as emissões de carbono. Esse impacto positivo na pegada de carbono do sistema de saúde é um passo significativo em direção a um sistema de entrega de assistência médica mais verde e responsável ambientalmente.

No entanto, é essencial reconhecer que a adoção de ferramentas de telereabilitação vem com uma curva de aprendizado. A tecnologia ainda é relativamente nova e pode haver desafios relacionados à instalação, configuração e adaptação do software, especialmente para profissionais de saúde e usuários menos familiarizados com processos tecnológicos. Superar esses desafios exigirá dedicação em termos de tempo e esforço para garantir uma transição suave e utilização efetiva dessas valiosas ferramentas. À medida que continuamos a refinar e integrar a telemedicina na prática da fisioterapia, seu potencial para abordar essas questões complexas permanece como um farol de esperança para o futuro da saúde.

O estudo apresenta várias limitações que valem ser destacadas. Primeiramente, o tamanho da amostra foi relativamente pequeno, focando exclusivamente em pacientes em tratamento de dor no ombro. Por outro lado, é necessária a necessidade de análises socioeconômicas e ambientais mais abrangentes, incluindo indicadores adicionais de desempenho de gestão de serviços de medicina de reabilitação em hospitais. Além disso, pesquisas futuras devem explorar a pegada ecológica de dispositivos eletrônicos e investigar o impacto clínico das conclusões do estudo, proporcionando assim uma compreensão mais holística da eficácia e implicações potenciais da telereabilitação.

Declaração sobre as contribuições do autor

Conceptualização, I.E.L., G.D., G.C. e J.F.P.; metodologia, I.E.L., G.D., G.C. e J.F.P.; software, G.D., G.C.; validação, I.R., G.D., G.C. e J.F.P.; análise formal, I.E.L., G.D., G.C. e J.F.P.; investigação, I.E.L., G.D., G.C. e J.F.P.; recursos, M.L.A., P.C., G.C. e J.F.P.; curadoria de dados, G.D., G.C. e J.F.P.; escrita - preparação do rascunho original, I.E.L., G.D., G.C. e J.F.P.; escrita - revisão e edição, M.L.A., P.C. e H.P.S.; visualização, I.E.L., G.D., G.C. e J.F.P.; supervisão, M.L.A., H.P.S. e J.F.P.; administração do projeto, M.L.A. e J.F.P..

Funding

This study received no external funding.

Acknowledgements

The authors would like to thank the President of the Board of Directors of Unidade Local de Saúde do Oeste, Dra Elsa Baião, for the technological initiative, encouragement, and support, and to the Director of the Rehabilitation Service, Dra Susana Caetano, for her acceptance and availability in the deployment of the study.

Conflict of Interests

The authors declare that Irina E. Lopes, Gil Dias, Gonçalo Chambel, and Joana F. Pinto are employed by Clynx[®]io, Lda..

Financiamento

Este trabalho não recebeu financiamento externo.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Presidente do Conselho de Administração do Unidade Local de Saúde do Oeste, Dra Elsa Baião, pela iniciativa tecnológica, incentivo e apoio, e à Diretora do Serviço de Reabilitação, Dra Susana Caetano, pela sua aceitação e disponibilidade na implementação do estudo.

Conflito de Interesses

Os autores declaram que Irina E. Lopes, Gil Dias, Gonçalo Chambel e Joana F. Pinto são empregados da Clynx[®]io, Lda..

References / Referências

1. Dupuis, F., Déry, J., Lucas de Oliveira, F. C., Pecora, A. T., Gagnon, R., Harding, K., . . . Perreault, K. (2022). Strategies to reduce waiting times in outpatient rehabilitation services for adults with physical disabilities: A systematic literature review. *Journal of Health Services Research & Policy*, 27(2), 157-167. doi:10.1177/13558196211065707
2. Deslauriers, S., Déry, J., Proulx, K., Laliberté, M., Desmeules, F., Feldman, D. E., & Perreault, K. (2021). Effects of waiting for outpatient physiotherapy services in persons with musculoskeletal disorders: a systematic review. *Disability and Rehabilitation*, 43(5). doi:10.1080/09638288.2019.1639222
3. Deslauriers, S., Raymond, M.-H., Laliberté, M., Lavoie, A., Desmeules, F., Feldman, D., & Perreault, K. (2016, October). Access to publicly funded outpatient physiotherapy services in Quebec: waiting lists and management strategies. *Disability and Rehabilitation*, 39, 1-9. doi:10.1080/09638288.2016.1238967
4. Buabbas, A. J., Albahrouh, S. E., Alrowayeh, H. N., & Alshawaf, H. (2022). Telerehabilitation during the COVID-19 Pandemic: Patients and Physical Therapists' Experiences. *Medical Principles and Practice*, 31(2), 156-164. doi:10.1159/000523775
5. Albahrouh, S. I., & Buabbas, A. J. (2021, April 8). Physiotherapists' perceptions of and willingness to use telerehabilitation in Kuwait during the COVID-19 pandemic. *BMC Medical Informatics and Decision Making*, 122(21), 122. doi:10.1186/s12911-021-01478-x
6. Seid, A. A., Aychiluhm, S. B., & Mohammed, A. A. (2022). Effectiveness and feasibility of telerehabilitation in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *BMJ open*, 12(10), e063961. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2022-063961>
7. Werneke, M. W., Deutscher, D., Grigsby, D., Tucker, C. A., Mioduski, J. E., & Hayes, D. (2021). Telerehabilitation During the COVID-19 Pandemic in Outpatient Rehabilitation Settings: A Descriptive Study. *Physical therapy*, 101(7), pzab110. <https://doi.org/10.1093/ptj/pzab110>
8. Mani, S., Sharma, S., & Singh, D. K. (2021). Concurrent validity and reliability of telerehabilitation-based physiotherapy assessment of cervical spine in adults with non-specific neck pain. *Journal of Telemedicine and Telecare*, 27(2), 88-97. doi:10.1177/1357633X19861802
9. van Egmond, M. A., van der Schaaf, M., Vredevelde, T., Vollenbroek-Hutten, M. M., van Berge Henegouwen, M. I., Klinkenbijn, J. H., & Engelbert, R. H. (2018). Effectiveness of physiotherapy with telerehabilitation in surgical patients: a systematic review and meta-analysis. *Physiotherapy*, 104(3), 277-298. doi:10.1016/j.physio.2018.04.004
10. Caniça, V., Bouça-Machado, R., & Ferreira, J. J. (2021, October). Feasibility and safety of telerehabilitation for physiotherapy interventions in movement disorders patients. *Movement Disorders Clinical Practice*, 8(7), 1144-1147. doi:10.1002/mdc3.13271
11. Bennel, K. L., Lawford, B. J., Metcalf, B., Mackenzie, D., Russel, T., van den Berg, M., . . . Hinman, R. S. (2021). Physiotherapists and patients report positive experiences overall with telehealth during the COVID-19 pandemic: a mixed-methods study. *Journal of Physiotherapy*, 67(3), 201-209. doi:10.1016/j.jphys.2021.06.009
12. Dias, G., Adrião, M. L., Clemente, P., Plácido da Silva, H., Chambel, G., & Pinto, J. F. (2022). Effectiveness of a Gamified and Home-Based Approach for Upper-limb Rehabilitation. 2022 44th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine & Biology Society (EMBC), (pp. 2602-2605).
13. World Confederation for Physical Therapy. (2020). Report of the WCPT/INPTRA Digital Physical Therapy Practice Task Force.
14. Lopes, I. E., Silva, D. C., Montes, A. M., Pereira, D., Castro, C., Couto, A. G., . . . Silva, H. P. (2024). Digital Physiotherapy: From Solutions to Practice. In R. S. Almeida, V. Simões-Silva, & M. J. Trigueiro, *Handbook of Research on Advances in Digital Technologies to Promote Rehabilitation and Community Participation* (pp. 48-76). IGI Global.
15. Borg, G. (1998). Borg's Perceived Exertion and Pain Scales. Human Kinetics Publishers.
16. Willmore, E. G., Millar, N. L., & van der Windt, D. (2022). Post-surgical physiotherapy in frozen shoulder: A review. *Shoulder & Elbow*, 14(4), 438-451. doi:10.1177/1758573220965870
17. Mo, N., Feng, J. Y., Liu, H. X., Chen, X. Y., Zhang, H., & Zeng, H. (2023). Effects of Exergaming on Musculoskeletal Pain in Older Adults: Systematic Review and Meta-analysis. *JMIR serious games*, 11, e42944. <https://doi.org/10.2196/42944>
18. Friedrich, M., Gittler, G., Arendasy, M., & Friedrich, K. M. (2005). Long-term effect of a combined exercise and motivational program on the level of disability of patients with chronic low back pain. *Spine*, 30(9), 995-1000. doi:10.1097/01.brs.0000160844.71551.af
19. Alexander, M. (2021). *Telerehabilitation: Principles and Practice*. Elsevier Health Sciences. Retrieved from <https://books.google.pt/books?id=u3dREAAAQBAJ>
20. Institute of Medicine (USA) Committee on Evaluating Clinical Applications of Telemedicine. (1996). *Telemedicine: A Guide to Assessing Telecommunications in Health Care*. (M. J. Field, Ed.) Washington (DC), United States of America: National Academies Press. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK45440/>

Appendix / Apêndice

Onboarding Form: Feedback on the Session using Clynx® Platform

We hope that this product to support Physiotherapy and Telerehabilitation is useful to you. It is essential to answer this brief questionnaire so that the follow-up is the best possible and so that your Physiotherapist can adjust your training plan whenever it is appropriate.

1. E-mail or Identifier Code

2. How far do you live from the Hospital Unit?

- a. Less than 1 km
- b. 1 to 3 km
- c. 3 to 5 km
- d. 5 to 10 km
- e. 10 to 15 km
- f. 15 to 20 km
- g. More than 20 km

3. How do you usually get to the Hospital?

- a. Own vehicle
- b. Family/friends/taxi
- c. Public transport
- d. Hospital transport
- e. Other:

4. How long did it take to install Clynx® Platform on your computer?

- a. Less than 5 minutes
- b. 5 to 10 minutes
- c. 10 to 15 minutes
- d. 15 to 20 minutes
- e. 20 to 30 minutes
- f. Other:

Formulário de Onboarding: Feedback das Sessões com a Clynx® Platform

Esperamos que este produto de auxílio à Fisioterapia e Telereabilitação seja útil. É essencial preencher este breve questionário para providenciarmos o melhor seguimento possível e para que o seu Fisioterapeuta possa ajustar o seu plano de tratamento quando apropriado.

1. E-mail ou Código de Identificação

2. Quão longe mora da Unidade Hospitalar?

- a. Menos de 1 km
- b. 1 a 3 km
- c. 3 a 5 km
- d. 5 a 10 km
- e. 10 a 15 km
- f. 15 a 20 km
- g. Mais de 20 km

3. Como se costuma deslocar ao Hospital?

- a. Veículo próprio
- b. Família/amigos/táxi
- c. Transportes públicos
- d. Hospital transporte do hospital
- e. Outro:

4. Quanto tempo demorou a instalação da Plataforma Clynx® no seu computador?

- a. Menos de 5 minutos
- b. 5 a 10 minutos
- c. 10 a 15 minutos
- d. 15 a 20 minutos
- e. 20 a 30 minutos
- f. Outro:



BIOMEDICAL AND BIOPHARMACEUTICAL RESEARCH

INVESTIGAÇÃO
BIOMÉDICA E BIOFARMACÊUTICA

Contents / Conteúdos

Vol. 21, No. 1

- 1** **2024 - This volume in brief notes**
2024 - Este volume em breves notas
L. Monteiro Rodrigues
- 4** **Asymmetric Adler-Becker reaction – an open issue**
Reação Adler-Becker assimétrica – um assunto em aberto Mark Christopher Arokiaraj & Eric Menesson
Andreia A. Rosatella & Carlos A. M. Afonso
- 15** **Looking for early indicators of vascular modification in young healthy tobacco smokers**
Procura de indicadores precoces de modificação vascular em jovens saudáveis fumadores de tabaco
Sérgio Fallone Andrade & Luís Monteiro Rodrigues
- 27** **Protective and anti-inflammatory effects of a dermocosmetic formulation containing a combination of vitamins**
Efeitos protetores e anti-inflamatórios de uma formulação dermocosmética contendo uma associação de vitaminas
Laura Noronha Favaro, Patrícia Maia Campos, Leticia Kakuda, & Luís Monteiro Rodrigues
- 43** **Topical application of a gel formulation containing Centauri® honey enhances epidermal water balance in healthy skin – data from a 28-day pilot trial**
A aplicação tópica de uma formulação gel contendo mel Centauri® melhora o equilíbrio da água epidérmica na pele saudável - dados de um ensaio-piloto de 28 dias
Mariana Cariano Lopes, Patrícia Rijo, & Luis Monteiro Rodrigues
- 56** **Influence of Instagram® and digital content creators on university students' food choices**
Influência do Instagram® e dos criadores de conteúdo digital nas escolhas alimentares de estudantes universitários
Tatiana Fontes, Patrícia Serra-Ferreira, & Cintia Ferreira-Pêgo
- 70** **Food security in times of COVID-19 - A study of access in homes in the Riobamba canton, Ecuador**
Segurança alimentar em tempos de COVID-19 - Um estudo de acesso em residências no cantão de Riobamba, Equador
Víctor Dante Ayaviri-Nina, Gisel Cristina Martínez-Llugin, Gabith Miriam Quispe-Fernández, Ariana Saraiva, Conrado Carrascosa, Heesup Han, António Raposo
- 87** **Neocarya macrophylla (Chrysobalanaceae): Review of taxonomy, ethnobotany, phytochemistry and biological activities**
Neocarya macrophylla (Chrysobalanaceae): Revisão sobre taxonomia, etnobotânica, fitoquímica e atividades biológicas
Amina Jega Yusuf, Musa Ismail Abdullahi, Abubakar Alhaji Muhammad, Kasimu Ghandi Ibrahim 3, Hajara Adamu Wasagu, Florencia Z. Bräuning, Gabrielle Bangay, & Patrícia Rijo
- 109** **Improvement of patients' antibiotic adherence: a descriptive analysis of pharmacists' interventions**
Melhor adesão dos doentes aos antibióticos: uma análise descritiva da intervenção farmacêutica
Carla Pires
- 127** **A Review on Eyelash Extensions: Methods, Safety, and Aesthetic Considerations**
Revisão sobre Extensões de Pestanas: Métodos, Segurança e Considerações
Maísa Oliveira de Melo
- 140** **Exploring Telerehabilitation with Clynx® Platform: Usability and Impact Assessment**
Exploração da Telereabilitação com a Plataforma Clynx®: Avaliação de Usabilidade e Impacto
Irina Esteves Lopes, Maria Leonor Adrião, Paulo Clemente, Hugo Plácido da Silva, Gil Dias, Gonçalo Chambel, & Joana Figueiredo Pinto

Vol. 21, No. 2

Book of Abstracts: Lusófona Nutrition Conference IV
Livro de Resumos: IV Jornadas Lusófonas de Nutrição

Book of Abstracts: XVIII FeSBE Regional Meeting - Uberlândia
Livro de Resumos: 2024 FeSBE XVIII Reunião Regional - Uberlândia

Book of Abstracts: 36th Brazilian Congress of Cosmetology
Livro de Resumos: 36º Congresso Brasileiro de Cosmetologia

Book of Abstracts: Federation of Societies of Experimental Biology (FeSBE) XXXVIII Annual Meeting
Livro de Resumos: Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE) XXXVIII Encontro Anual

Book of Abstracts: LIX Annual Congress of the SBFis
Livro de Resumos: LIX Congresso Anual da SBFis

Book of Abstracts: 2024 CBIOS Scientific Seminars
Livro de Resumos: 2024 CBIOS Seminários Científicos