



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Catarina Sofia Mesquita Rodrigues Batista

Relatórios de Estágio orientados pela Dra. Teresa Barreiro e pela Dra. Sara Figueiredo e Monografia intitulada “Perturbação do Ritmo Circadiano e Cancro: Foco no ROR” orientada pela Professora Doutora Maria Manuel Silva referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Janeiro de 2023



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

**Catarina Sofia Mesquita Rodrigues Batista**

Relatórios de Estágio orientados pela Dra. Teresa Barreiro e pela Dra. Sara Figueiredo e Monografia intitulada “Perturbação do Ritmo Circadiano e Cancro: Foco no ROR” orientada pela Professora Doutora Maria Manuel Silva referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**Janeiro de 2023**

Eu, Catarina Sofia Mesquita Rodrigues Batista, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017265137, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Perturbação do Ritmo Circadiano e Cancro: Foco no ROR” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 30 de janeiro de 2023.

Catarina Sofia Mesquita Rodrigues Batista  
(Catarina Sofia Mesquita Rodrigues Batista)

## **Agradecimentos**

Aos meus pais, Jorge e Elisa, por serem o meu pilar e o meu porto de abrigo. Por estarem ao meu lado, nos melhores e nos piores momentos, por acreditarem sempre em mim, mesmo quando eu duvido, por me ensinarem a nunca desistir e pelo amor incondicional. Estas palavras não são suficientes para expressar a minha gratidão. Nada disto seria possível sem vocês. As minhas vitórias são as vossas vitórias.

À minha irmã, Ana Isabel, por fazer-se sempre presente, mesmo estando longe. Por todas as conversas, pelos conselhos, por me ajudar a ultrapassar todas as adversidades e por nunca largar a minha mão ao longo destes 24 anos. És uma força da natureza.

Aos meus sobrinhos, Afonso e Rodrigo, por serem a luz da minha vida. Pelas gargalhadas, pela energia contagiante, por me ensinarem coisas novas todos os dias e pelo carinho que só eles sabem dar.

Ao meu cunhado, Ricardo, por me acolher sempre que preciso. Por todas as vivências e novas experiências, pela paciência e pelo incentivo.

Ao André, à Catarina e à Cátia por estarem na minha vida há mais de uma década. Por me ensinarem o verdadeiro valor da amizade, por me receberem de braços abertos e por me ouvirem sempre que preciso.

À família que Coimbra me deu. À Ana, à Catarina, à Filipa, à Margarida, à Rute Lourenço, à Rute Carvalho e à Sara por terem percorrido e partilhado todo este caminho comigo. Obrigada pelo companheirismo, pelas inúmeras aventuras, por todas as histórias e pelo ombro amigo. Sem vocês este percurso não teria sido o mesmo.

À minha Orientadora de Monografia, Professora Doutora Maria Manuel Silva, agradeço todo o apoio, disponibilidade, compreensão e transmissão de conhecimentos.

A todo o Departamento de Introdução de Novos Produtos e Controlo Microbiológico do Laboratório de Estudos Farmacêuticos. Um agradecimento especial à Doutora Sara Figueiredo pela orientação e por me apresentar o mundo da Indústria Farmacêutica.

A toda a equipa da Farmácia Barreiro. Foram quatro meses de muitos ensinamentos e experiências enriquecedoras. Nunca esquecerei onde dei os primeiros passos rumo à prática da profissão farmacêutica. À Dra. Teresa Barreiro pela oportunidade e pela confiança. À Dra. Ana Couto por tudo o que me transmitiu, por me mostrar o lado humano essencial a esta prática e por representar tudo aquilo que eu anseio alcançar na profissão.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, a todos os Docentes e não Docentes pelo papel fulcral que desempenharam na minha vida.

A Coimbra que foi a minha Casa durante estes 5 magníficos anos. Foi sorrisos, lágrimas, esforço e sobretudo crescimento. Foi a minha melhor escolha. As memórias deste tempo ficarão eternamente comigo. Coimbra será sempre a minha cidade.

A todos aqueles que se cruzaram comigo e que de alguma forma contribuíram para a minha trajetória.

A todos vós, muito obrigada!

*“Recomeça...  
Se pudes  
Sem angústia  
E sem pressa.  
E os passos que deres,  
Nesse caminho duro  
Do futuro  
Dá-os em liberdade.  
Enquanto não alcances  
Não descanses.  
De nenhum fruto queiras só metade.”*

**Miguel Torga**

## Resumo

O estágio curricular tem como grande objetivo a aproximação do estudante à realidade da profissão. Durante esse período, é expectável que os conceitos aprendidos durante os 5 anos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas sejam usados na prática.

A farmácia comunitária é a face mais visível da profissão farmacêutica. Trata-se de um espaço de saúde e é, muitas vezes, o primeiro local ao qual as pessoas recorrem aquando do aparecimento de sinais e sintomas preocupantes. O ato do aconselhamento é o pilar da prestação de cuidados farmacêuticos.

A indústria farmacêutica apresenta-se como uma área dinâmica e em constante evolução e prova frequentemente a sua importância para a sociedade. É essencial para garantir a segurança dos medicamentos e está intimamente relacionada com o aumento da esperança de vida e da qualidade de vida das pessoas. A temática da canábis medicinal é recorrente na indústria farmacêutica. Trata-se de um assunto muito atual, contudo ainda provoca dúvidas e leva a diversos debates.

O farmacêutico ao desenvolver a sua atividade, em qualquer uma das áreas das Ciências Farmacêuticas, lida com a doença. Uma das doenças que mais preocupa e que apresenta uma grande incidência no mundo é o cancro. O cancro está intrinsecamente ligado à disrupção do ritmo circadiano. O ritmo circadiano é vital para manter a homeostase fisiológica e a função normal de todos os organismos. Os RORs são reguladores importantes em vários tipos de cancro devido ao seu papel fundamental na imunidade, no ritmo circadiano e na homeostase metabólica. Devido à importância que assume, o ritmo circadiano tem sido um alvo emergente para a prevenção e tratamento do cancro.

**Palavras-Chave:** Farmácia Comunitária, Indústria Farmacêutica, Ritmo Circadiano, Cancro, ROR.

## **Abstract**

The main objective of the curricular internship is to bring the student closer to the reality of the profession. During this period, it is expected that the concepts learned during the 5 years of the Integrated Masters in Pharmaceutical Sciences are put to practice.

Community pharmacy is the most known area of the pharmaceutical profession. It is a health space and is often the first place people turn to when symptoms of concern start to appear. The act of counseling is the pillar of pharmaceutical care.

The pharmaceutical industry presents itself as a dynamic and constantly evolving area and often proves its importance to society. It is essential to ensure the safety of medicines and is closely related to increasing people's life quality and expectancy. Medicinal cannabis is a recurrent topic of the pharmaceutical industry. Although a modern topic, it still raises doubts and leads to several debates.

The professional pharmacist while executing his activity, in any of the areas of Pharmaceutical Sciences deals with disease. One of the most worrisome diseases of current times with a high rate of incidence in the world is cancer. Cancer is intrinsically connected to the disruption of the circadian rhythm. The circadian rhythm is vital for maintaining physiological homeostasis and normal function in all organisms. RORs are important regulators in several types of cancer due to their key role in immunity, circadian rhythm and metabolic homeostasis. Due to this importance the circadian rhythm has been an emerging target for cancer prevention and treatment.

**Keywords:** Community Pharmacy, Pharmaceutical Industry, Circadian Rhythm, Cancer, ROR.

## Índice

### Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas .....	12
Introdução .....	13
1. A Farmácia Barreiro .....	14
2. Análise SWOT .....	15
2.1. Pontos Fortes .....	16
2.1.1. Método de trabalho e plano de estágio .....	16
2.1.2. Integração na equipa .....	16
2.2. Pontos Fracos .....	17
2.2.1. Dificuldade na associação do nome comercial do medicamento à substância ativa ....	17
2.2.2. Hesitação no aconselhamento .....	18
2.3. Oportunidades .....	19
2.3.1. Contacto com o sistema Sifarma® .....	19
2.3.2. Formações .....	19
2.3.3. Serviços prestados na farmácia .....	19
2.4. Ameaças .....	20
2.4.1. Receitas manuais .....	20
2.4.2. Resistência e falta de confiança do utente .....	20
2.4.3. Efeitos decorrentes da pandemia COVID-19 .....	21
2.4.4. Proximidade a um Local de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica	21
2.4.5. Medicamentos Esgotados .....	21
3. Casos Práticos .....	22
Considerações Finais .....	26
Referências Bibliográficas .....	27

### Parte II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas .....	30
Introdução .....	31
1. Laboratório de Estudos Farmacêuticos .....	32
1.1. Departamento de Introdução de Novos Produtos e Controlo Microbiológico .....	32
1.1.1. Desenvolvimento de protocolos para os métodos de deteção da <i>Shigella spp.</i> e da <i>Escherichia coli</i> O157 .....	33
1.1.2. Reconciliação de pastas .....	34
2. Análise SWOT .....	35
2.1. Pontos Fortes .....	35
2.1.1. Receção de boas-vindas aos estagiários .....	35
2.1.2. Aumento do conhecimento sobre a temática da canábis medicinal .....	36
2.1.3. Equipamento de trabalho e e-mail profissional .....	36
2.1.4. Relação com a equipa da Microbiologia .....	36

2.2.	Pontos Fracos.....	37
2.2.1.	Acesso às instalações do LEF .....	37
2.2.2.	Duração do Estágio .....	37
2.2.3.	Pouco contacto com a execução analítica de ensaios microbiológicos .....	37
2.3.	Oportunidades .....	38
2.3.1.	Ambiente GMP.....	38
2.3.2.	Consolidação de conhecimentos teóricos.....	38
2.3.3.	Formações internas .....	38
2.4.	Ameaças .....	39
2.4.1.	Distância entre o espaço de trabalho próprio e o da equipa da Microbiologia, com impacto sobre a comunicação.....	39
2.4.2.	Falha na comunicação entre as partes envolvidas (FFUC/LEF/estagiária) sobre a data de início do estágio .....	39
	Considerações Finais.....	40

### **Parte III – Monografia "Perturbação do Ritmo Circadiano e Cancro: Foco no ROR"**

	Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas .....	43
	Introdução.....	44
1.	Ritmo circadiano .....	45
1.1.	Mecanismo molecular do ritmo circadiano.....	45
1.2.	Disrupção do ritmo circadiano .....	47
1.3.	Impacto da disrupção do ritmo circadiano no desenvolvimento do cancro .....	48
1.3.1.	Controlo circadiano do metabolismo do tumor .....	49
2.	Papel dos intervenientes do ritmo circadiano no cancro .....	50
2.1.	REV-ERB e ROR.....	50
2.1.1.	Importância dos RORs.....	51
2.2.	BMALI e CLOCK .....	51
2.3.	Per e Cry.....	52
3.	Melatonina .....	52
3.1.	Melatonina, ritmo circadiano e cancro .....	54
3.2.	Melatonina e os hallmarks do cancro .....	55
4.	Terapêutica – Aplicação da terapia associada ao relógio circadiano no tratamento do cancro..	56
4.1.	Cronoterapia – otimização da administração de medicamentos .....	57
	Considerações Finais.....	63
	Referências Bibliográficas .....	64

## Índice de Tabelas

### Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

**Tabela I:** Análise SWOT correspondente ao estágio realizado em Farmácia Comunitária ..... 15

### Parte II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

**Tabela I:** Análise SWOT correspondente ao estágio realizado em Indústria Farmacêutica ..... 35

### Parte III – Monografia "Perturbação do Ritmo Circadiano e Cancro: Foco no ROR"

**Tabela I:** Estudos que evidenciam a associação entre o cancro e as perturbações do ritmo circadiano ..... 48

## Índice de Figuras

### Parte III – Monografia "Perturbação do Ritmo Circadiano e Cancro: Foco no ROR"

**Figura 1:** Maquinaria do relógio circadiano – O loop primário consiste nos fatores de transcrição positivos, CLOCK e BMAL1, e nos repressores de transcrição, PER e CRY. No loop secundário, ROR e REV-ERB regulam reciprocamente a transcrição BMAL1 ..... 47

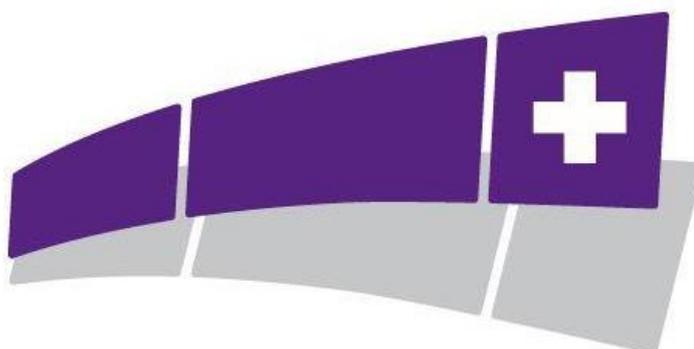
**Figura 2:** Biossíntese de melatonina..... 53

**Figura 3:** Produção de melatonina – O pico é atingido por volta das 2h da manhã ..... 54

# Parte I

## Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Barreiro – Chaves



FARMÁCIA  
**BARREIRO**

Estágio sob a orientação da Dra. Teresa Barreiro

4 de abril de 2022 – 27 de julho de 2022

## Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas

<b>ANF</b>	Associação Nacional das Farmácias
<b>ARSN</b>	Administração Regional de Saúde do Norte, I.P.
<b>COE</b>	Contraceção Oral de Emergência
<b>COVID-19</b>	<i>Coronavirus Disease 2019</i>
<b>DCI</b>	Denominação Comum Internacional
<b>EC</b>	Estágio Curricular
<b>FB</b>	Farmácia Barreiro
<b>FFUC</b>	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
<b>Glintt</b>	<i>Global Intelligent Technologies</i>
<b>LVMNSRM</b>	Local de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
<b>MICF</b>	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
<b>MNSRM</b>	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
<b>MNSRM-EF</b>	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de Dispensa Exclusiva em Farmácia
<b>MSRM</b>	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
<b>PVP</b>	Preço de Venda ao Público
<b>RE</b>	Receitas Eletrónicas
<b>RM</b>	Receitas Manuais
<b>SPMS, EPE</b>	Serviços Partilhados do Ministério da Saúde
<b>SWOT</b>	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats</i>
<b>TRAg</b>	Testes Rápidos de Antigénio
<b>UC</b>	Unidades Curriculares
<b>VALORMED</b>	Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos

## Introdução

A farmácia comunitária revela-se como a face mais visível da profissão farmacêutica. Trata-se de um espaço de saúde, sendo, muitas vezes, o primeiro local ao qual as pessoas recorrem aquando do surgimento de sinais e sintomas preocupantes.<sup>1</sup>

A atividade farmacêutica centra-se essencialmente na saúde dos cidadãos e o farmacêutico assume um papel de agente de saúde pública e especialista do medicamento. Percebe-se que a sua principal função e responsabilidade é para com o bem-estar das pessoas, através da oferta de um tratamento de qualidade, efetividade e segurança.<sup>2</sup> O farmacêutico comunitário apresenta uma influência preponderante em áreas como a gestão da terapêutica, a administração de medicamentos, a deteção precoce de doenças, a promoção de um estilo de vida saudável e do autocuidado, a utilização racional dos medicamentos e a determinação de vários parâmetros e identificação de pessoas com risco de vir a desenvolver determinadas condições como, por exemplo, hipercolesterolemia, hiperglicemia ou hipertensão.<sup>3</sup> É um profissional que deve integrar qualquer sistema de saúde abrangente, contribuindo intimamente para a melhoria do acesso aos cuidados de saúde.<sup>2</sup>

Como a área da farmácia comunitária é a mais representativa da classe farmacêutica, devido à visibilidade, à importância que detém junto do cidadão e à percentagem elevada de profissionais que absorve<sup>4</sup>, está inscrita no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) como uma Unidade Curricular (UC) de carácter obrigatório. O estudante tem assim a oportunidade de aplicar os conceitos apreendidos durante 5 anos a uma realidade prática, através do aconselhamento personalizado e individualizado a cada um dos utentes.

O EC em farmácia comunitária decorreu durante 4 meses, entre os dias 4 de abril e 27 de julho de 2022, na Farmácia Barreiro (FB), sob a orientação da Dra. Teresa Barreiro. Representou um momento fulcral no meu percurso académico e no meu futuro percurso profissional, visto que pude vivenciar a realidade e o trabalho desenvolvido nas farmácias e lidar na primeira pessoa com as questões dos utentes, tendo de solucionar no imediato todas as situações.

No presente relatório está descrita a FB e são narradas todas as atividades desenvolvidas ao longo dos vários meses de estágio. No final, é feita uma reflexão sobre esta experiência, através da realização de uma Análise SWOT (do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*). A análise auxilia na avaliação deste período, devido à exposição dos pontos fortes, dos pontos fracos, das oportunidades e das ameaças que marcaram o meu EC.

## **I. A Farmácia Barreiro**

Fundada em 2005, a FB situa-se na cidade de Chaves, mais concretamente na Avenida Doutor António Granjo, e usufrui de um posicionamento geográfico privilegiado. Estando localizada junto de várias superfícies comerciais, clínicas médicas e de uma estação rodoviária, a farmácia detém um vasto e diversificado público, servindo desde utentes mais esporádicos, que recorrem a este espaço de saúde em situações pontuais, de maior necessidade ou urgência, até utentes regulares e fidelizados, sendo este último grupo representado maioritariamente por uma população mais idosa e vulnerável.

No que respeita às instalações da FB, é cumprido o estabelecido no Artigo 29º do Regime Jurídico das Farmácias de Oficina. Deste modo, a Farmácia dispõe de uma ampla e moderna sala de atendimento ao público, de um espaço destinado à receção de encomendas e armazenamento dos medicamentos e outros produtos (também designado por *back office*), tem um laboratório e ainda instalações sanitárias. Adicionalmente, além destas divisões obrigatórias, possui o escritório da Direção Técnica e dois gabinetes para o atendimento personalizado e individualizado ao utente.<sup>5</sup> A sala de atendimento ao público constitui o compartimento central da farmácia, pois é lá que os utentes se movimentam. Deste modo, a sala de atendimento ao público da FB é um espaço adequadamente iluminado e climatizado, é confortável, dispendo de cadeiras para quem necessite, e apresenta ainda uma organização específica, de modo que as pessoas se desloquem livremente pelo local. O local apresenta diferentes áreas como, por exemplo, a área da puericultura, da dietética, dos cuidados capilares, da dermocosmética, da ortopedia, da dietética e da veterinária, estando os produtos estrategicamente distribuídos pelas mesmas.

Relativamente ao horário de funcionamento, a FB encontra-se aberta de segunda a sexta-feira, ininterruptamente das 9 às 19 horas, e ainda aos sábados, das 9 às 13 horas. Ademais, é seguido o estabelecido no Decreto-Lei n.º 172/2012, de 1 de agosto, e a farmácia cumpre, a cada 11 dias, o serviço permanente, sendo as escalas de turnos antecipadamente aprovadas pela Administração Regional de Saúde do Norte, I.P. (ARSN).<sup>6</sup>

No que concerne à constituição da equipa que atua na FB, a mesma é composta por um total de 6 profissionais. O grupo é liderado pela Dra. Teresa Barreiro, proprietária e Diretora Técnica da farmácia, e conta com mais 3 farmacêuticas adjuntas e 2 técnicas de farmácia. Trata-se de uma equipa jovem, dinâmica, com capacidade de adaptação às mais variadas situações e que executa um trabalho conjunto cuja finalidade passa pela capacidade de personalização do aconselhamento de acordo com as necessidades do utente.

A FB tem como ferramenta de gestão e atendimento o *software* Sifarma® da *Global Intelligent Technologies* (Glintt), utilizando concomitantemente o Sifarma® 2000 e o novo módulo de atendimento do Sifarma®.

Além disso, a farmácia é representada pela Associação Nacional de Farmácias (ANF), pois integra a rede de Farmácias Portuguesas. Devido a este facto, dispõe do Cartão Saúde, com o qual os utentes podem acumular pontos e usufruir de descontos.

No âmbito do Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens de Medicamentos (SIGREM), a FB constitui um ponto de recolha da Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos (VALORMED) ao receber medicamentos fora do prazo, embalagens de medicamentos e elementos vazios ou com restos, como blisters, ampolas ou frascos.<sup>7</sup>

## 2. Análise SWOT

A realização da Análise SWOT permite a identificação e avaliação dos principais aspetos que caracterizaram o meu EC, incidindo sobre os Pontos Fortes (*Strengths*), os Pontos Fracos (*Weaknesses*), as Oportunidades (*Opportunities*) e as Ameaças (*Threats*) que decorreram do mesmo.

**Tabela I:** Análise SWOT correspondente ao estágio realizado em Farmácia Comunitária.

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none"> <li>Método de trabalho e plano de estágio;</li> <li>Integração na equipa;</li> <li>Aconselhamento personalizado e proximidade ao utente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dificuldade na associação do nome comercial do medicamento à substância ativa;</li> <li>Hesitação no aconselhamento.</li> </ul>
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none"> <li>Contacto com o sistema Sifarma®;</li> <li>Formações;</li> <li>Serviços prestados na farmácia.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Receitas manuais;</li> <li>Resistência e falta de confiança do utente;</li> <li>Efeitos decorrentes da pandemia COVID-19;</li> <li>Proximidade a um local de venda de medicamentos não sujeitos a receita médica;</li> <li>Medicamentos esgotados.</li> </ul>

## **2.1. Pontos Fortes**

### **2.1.1. Método de trabalho e plano de estágio**

Durante o EC, foi-me possível conhecer a realidade da profissão farmacêutica em todas as suas dimensões e isso só foi possível devido ao método de trabalho seguido na FB e à organização, estrutura e abrangência do meu plano de estágio.

Inicialmente, o meu trabalho desenvolveu-se no *back office*, onde comecei por realizar tarefas como a verificação e receção de encomendas e a organização de medicamentos e outros produtos de saúde. A receção de encomendas constitui uma das tarefas mais importantes do *back office*, pois obriga à verificação do preço de custo dos produtos recebidos, ao cálculo do preço de venda ao público (PVP) e à verificação dos prazos de validade. Assim, foi possível, por um lado, familiarizar-me com o Sifarma<sup>®</sup> 2000 e também com o novo módulo de atendimento do Sifarma<sup>®</sup>, para posteriormente utilizar no atendimento ao balcão, e ainda ter contacto com os medicamentos, o que me ajudou a começar a associar a substância ativa ao nome comercial, a conhecer o catálogo de produtos da farmácia e a conhecer a embalagem de cada medicamento, algo que foi útil para o ato da dispensa e indicação farmacêutica.

O meu trabalho no *front office* consistiu, para além da dispensa de medicamentos e do aconselhamento farmacêutico, em tarefas como a reposição, organização e exposição dos produtos e a medição de parâmetros (pressão arterial, glicemia, colesterol total e triglicéridos).

O atendimento ao balcão foi a tarefa mais marcante e desafiante que cumpri e, devido a isto, primeiro comecei por acompanhar a equipa técnica na realização destes atendimentos, de modo a compreender melhor como se desenvolviam, e só depois é que passei à realização dos mesmos de uma forma independente.

### **2.1.2. Integração na equipa**

A equipa técnica da FB é composta por 4 farmacêuticas e 2 técnicas de farmácia. Distingue-se por ser uma equipa dinâmica, proativa, informada, atualizada e que presta um serviço de excelência ao cidadão.

Durante os 4 meses de EC senti-me extremamente acompanhada por toda a equipa. Todos os elementos se mostravam disponíveis para esclarecer as minhas dúvidas, debater temas de interesse e partilhar comigo conhecimentos e aspetos importantes do

aconselhamento farmacêutico. A equipa incentivava-me, desafiava-me e estimulava o meu espírito crítico diariamente.

O espírito de equipa foi, sem dúvida, um dos grandes alicerces do meu estágio. A autonomia e a confiança que em mim foi depositada definiram o meu percurso, um percurso que ficou marcado pela evolução e pelo crescimento pessoal e profissional.

### **2.1.3. Aconselhamento personalizado e proximidade ao utente**

A indicação farmacêutica define-se como “o ato profissional pelo qual o farmacêutico se responsabiliza pela seleção de um medicamento não sujeito a receita médica (MNSRM), ou de um produto de saúde, e/ou indicação de medidas não farmacológicas, com o objetivo de tratar um problema de saúde considerado como afeção menor, entendido como problema de saúde de carácter não grave, autolimitado, de curta duração, que não apresente relação com manifestações clínicas de outros problemas de saúde do utente, após avaliação clínica pelo farmacêutico”.<sup>8</sup> Para se conseguir proporcionar um aconselhamento farmacêutico personalizado e individualizado é fulcral a aproximação ao utente e é necessário estabelecer uma comunicação adequada com a pessoa e realizar uma série de questões, com o intuito de compreender a situação na totalidade e, assim, fazer a indicação mais correta. Deste modo, tenta recolher-se informação sobre os sintomas apresentados, a duração do problema, possíveis problemas de saúde do utente, medicação habitual e se se trata de uma situação esporádica ou regular. De acordo com as respostas, procedemos à avaliação do caso e ao aconselhamento ao utente ou, em potenciais situações de gravidade, à referenciação ao médico.

A FB oferece um serviço de proximidade e tem uma grande percentagem de utentes regulares. O facto de se conhecer a pessoa que está à nossa frente, bem como todo o seu historial, permite que façamos um aconselhamento ainda mais particularizado e adequado.

## **2.2. Pontos Fracos**

### **2.2.1. Dificuldade na associação do nome comercial do medicamento à substância ativa**

Apesar de atualmente a prescrição de medicamentos ser feita por Denominação Comum Internacional (DCI), quando iniciei atividade no balcão da farmácia, ouvia frequentemente os utentes a referirem-se a determinado medicamento através do nome

comercial. Como na faculdade estamos familiarizados com o princípio ativo e não propriamente com o nome comercial dos medicamentos, isto constituiu uma dificuldade a ser superada.

A ferramenta Sifarma<sup>®</sup> permite a consulta das fichas dos produtos, nas quais é possível consultar o princípio ativo referente a cada medicamento. Assim, este sistema foi um auxiliar importante na minha fase de adaptação ao atendimento ao público e nesta associação entre substância ativa/nome comercial do medicamento.

Esta dificuldade foi ultrapassada através do contacto com os medicamentos, quer fosse no *back office*, na receção das encomendas e nas tarefas de organização, quer fosse no próprio ato da dispensa.

### **2.2.2. Hesitação no aconselhamento**

O ato do aconselhamento é o pilar da prestação de cuidados farmacêuticos e assumiu um papel preponderante ao longo da realização do meu EC. Durante os 5 anos do meu percurso académico, adquiri conhecimentos essenciais para efetuar uma indicação farmacêutica correta e de excelência, porém, inicialmente, esta atividade mostrou-se bastante desafiante.

O facto de existir um vasto catálogo de MNSRM e outros produtos de saúde, a explicação por vezes imprecisa e incompleta por parte do utente e a inexperiência inicial para o tratamento imediato destes casos constituíam os principais obstáculos a esta atividade do aconselhamento farmacêutico. Com o passar do período de adaptação no atendimento ao público, com o conhecimento crescente dos produtos existentes na farmácia para indicação e com o contacto cada vez mais frequente com casos de aconselhamento, consegui facilmente integrar os conhecimentos teóricos ao contexto prático e ultrapassar esta questão.

A equipa técnica da FB auxiliou-me nesta situação partilhando comigo conhecimentos, informações e métodos de abordagem a diferentes situações e incentivando sempre o meu espírito crítico e capacidade de resolução de problemas.

## **2.3. Oportunidades**

### **2.3.1. Contacto com o sistema Sifarma®**

O Sifarma® é a ferramenta de gestão e atendimento utilizado pela FB.

No decorrer do meu EC, tive a oportunidade de trabalhar com o Sifarma® 2000 e com o novo módulo de atendimento do Sifarma®. O Sifarma® 2000 continua a ser utilizado para operar funcionalidades ainda não existentes no novo módulo, como é o caso, por exemplo, da receção de encomendas e devoluções de produtos.

O contacto com o novo módulo de atendimento do Sifarma® foi positivo, visto que se trata de um sistema mais organizado e intuitivo que a versão de atendimento do Sifarma® 2000. É possível aceder à ficha dos produtos, o que constitui uma mais-valia no ato do atendimento.

### **2.3.2. Formações**

A excelência do exercício da profissão farmacêutica está intrinsecamente ligada a uma constante formação e atualização dos profissionais. Para isto, é fundamental acompanhar os avanços na prática do ofício, nas normas e legislação e nos avanços tecnológicos para conseguir atender às necessidades em saúde dos utentes. Existe um conceito designado por desenvolvimento profissional contínuo e é definido como “a responsabilidade individual dos farmacêuticos com a atualização permanente e o desenvolvimento sistemático de conhecimentos, competências e aptidões ao longo da sua vida ativa”.<sup>9</sup>

Durante o meu EC, tive a oportunidade de assistir a diversas formações que me ajudaram a melhor conhecer os produtos abordados e, desta forma, a indicar os produtos mencionados mais facilmente. Pude assistir a diversas formações, destacando-se as da Cantabria® (Heliocare), da Menarini®, da ISDIN®, da Bayer® (Canesten) e da Mylan® (Allergodil). Estas sessões ajudaram-me a conhecer novos produtos, a esclarecer dúvidas existentes e a assimilar informação que foi útil para o estágio e certamente será útil para quando praticar a profissão.

### **2.3.3. Serviços prestados na farmácia**

A FB presta uma diversidade de serviços com o intuito de satisfazer as necessidades dos utentes e onde são utilizados meios de diagnóstico e terapêutica. Enquanto estagiária, pude auxiliar na prestação destes serviços. Durante o EC tive a oportunidade de proceder à

medição da pressão arterial e ainda à medição de parâmetros bioquímicos como a glicemia, o colesterol total e os triglicéridos. Na farmácia realizavam-se testes rápidos de antigênio (TRAg) e apesar de eu não auxiliar na execução dos mesmos, ajudava na inserção dos resultados na plataforma dos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS, EPE). Para além disto, ainda existia o serviço de administração de vacinas e injetáveis.

## **2.4. Ameaças**

### **2.4.1. Receitas manuais**

Atualmente, a maioria das receitas que chegam à farmácia são receitas eletrônicas (RE) eletrônicas materializadas ou desmaterializadas, estando a prescrição manual a cair em desuso. No entanto, o número de receitas manuais (RM) prescritas ainda é considerável. É preciso uma atenção redobrada com este tipo de receitas, pois é necessário que a receita cumpra certos parâmetros para ser aceite pela farmácia e, posteriormente, para a farmácia ser reembolsada com o valor referente à compartição. Assim, é necessário verificar que o médico prescriptor assinala a exceção legal que justifica a prescrição manual, a indicação do local de prescrição, a validade da prescrição e o número de embalagens, a identificação e assinatura do médico prescriptor (vinheta) e ainda é preciso conferir que as receitas não estão rasuradas, não têm caligrafias diferentes e que não foram escritas com canetas diferentes ou lápis.<sup>10</sup> Por vezes, era complexo perceber a letra do prescriptor, o que é essencial para uma dispensa correta dos medicamentos.

### **2.4.2. Resistência e falta de confiança do utente**

As pessoas recorrem diariamente à farmácia com o objetivo de se aconselharem sobre sinais e sintomas que apresentam e de obter uma resolução para os mesmos. O aconselhamento farmacêutico apresenta-se, deste modo, como uma competência essencial e de extrema importância no ato da profissão.

Ao longo do meu EC, foram inúmeros os casos de aconselhamento farmacêutico com os quais me deparei e nos quais tive de intervir. Quando iniciei o atendimento ao balcão na farmácia, por vezes hesitava em algumas situações de aconselhamento, como já foi referido anteriormente, devido à fase de adaptação a esta realidade imediata e há grande quantidade de produtos com a mesma indicação. Geralmente, as pessoas mostravam-se calmas e, deste modo, tinha o tempo necessário para efetuar escolhas e chegar ao aconselhamento que

considerava mais indicado, todavia um número reduzido de utentes mostrava uma certa resistência em ser atendido por uma estagiária, chegando alguns a optarem pelo atendimento por parte de outro membro da equipa.

### **2.4.3. Efeitos decorrentes da pandemia COVID-19**

Durante o meu EC, muitas das medidas impostas devido à pandemia *Coronavirus Disease* 2019 (COVID-19) já tinham sido levantadas, contudo o uso da máscara no interior da farmácia ainda era obrigatório e continuava a dar-se uso aos acrílicos de proteção nos balcões. Assim, a comunicação era de certo modo prejudicada, principalmente no que toca ao contacto com idosos ou pessoas com dificuldades auditivas. Em casos mais complexos, convidava a pessoa a acompanharem-me a um dos gabinetes de atendimento personalizado, de modo a quebrar a barreira que o balcão e os acrílicos impunham e a fazer-me entender. Com este gesto, tentava ultrapassar esta ameaça e garantir que os utentes saiam da farmácia informados e totalmente esclarecidos.

### **2.4.4. Proximidade a um Local de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica**

Apesar de desfrutar de uma localização privilegiada, a FB está próxima de um Local de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receitas Médicas (LVMNSRM). Isto tem impacto na venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) e outros produtos, uma vez que os utentes optam cada vez mais por comprarem nesses locais. Este facto deve-se, em grande parte, aos preços mais baixos praticados por estes concorrentes.

Na farmácia, o utente tem um aconselhamento personalizado e individualizado, coisa que não se verifica no LVMNSRM. O farmacêutico alerta para potenciais interações medicamentosas e efeitos adversos, impedindo assim que ocorram situações de risco. Na falta deste contacto entre o profissional e o utente, as pessoas procuram esclarecimentos nas farmácias, embora, muitas das vezes, acabem por adquirir os produtos no LVMNSRM.

### **2.4.5. Medicamentos Esgotados**

As ruturas de *stock* devido aos medicamentos esgotados constituíram um desafio no decorrer do meu EC. Várias foram as falhas que surgiram ao longo dos 4 meses, como foi o caso, por exemplo, da preparação Moviprep<sup>®</sup> usada para a colonoscopia.

No caso de nos solicitarem um medicamento que se encontrava esgotado, em primeiro lugar, procurava-se informar a pessoa sobre esta falha em questão. Muitas vezes, o utente não compreendia esta quebra do medicamento e punha em causa a minha capacidade de realizar encomendas enquanto estagiária.

Por vezes, o medicamento que se encontrava esgotada era o medicamento original ou de marca, estando os genéricos disponíveis. No caso, apresentava-se esta alternativa ao utente, de forma a solucionar a questão e a não comprometer a terapêutica.

### **3. Casos Práticos**

A indicação farmacêutica assume o papel principal na prática desenvolvida nas farmácias comunitárias. Deste modo, foram diversas as vezes que tive de aplicar os conhecimentos apreendidos durante o meu percurso académico ao contexto prático, de modo a oferecer um aconselhamento correto, personalizado e individualizado.

Em seguida, são apresentadas 5 situações com as quais fui confrontada no decorrer do meu EC.

#### **Caso Clínico n.º I**

Uma senhora, com cerca de 30 anos, dirige-se à farmácia e diz estar com uma infeção urinária. Quando questionada sobre a sintomatologia, afirma que sente algum desconforto e ardor ao urinar. Pede que lhe dispense Fosfomicina Monuril®, uma vez que é “o que lhe resolver sempre a situação”, declarando que se trata de um problema recorrente.

Comecei por explicar à utente que a fosfomicina é um MSRM e, como tal, é necessária prescrição médica para a sua dispensa. Esclareci que, embora não pudesse ceder o antibiótico, podia indicar um MNSRM com indicação para a infeção urinária.

Assim, sugeri o uso do suplemento alimentar Cistiless® que contém na composição D-Manose e *Lactobacillus fermentum* CS57. A D-Manose previne e leva à diminuição da adesão das bactérias às paredes das vias urinárias, o que melhora a sintomatologia associada a esta condição. Já os *Lactobacillus fermentum* CS57 ajudam a melhorar a microbótica das vias urinárias, de modo a aumentar a resistência ao desenvolvimento de infeções urinárias.<sup>11</sup>

Esclareci que o Cistiless®, nesta situação, deve ser tomado 2 vezes por dia, de manhã e a meio da tarde, durante os 3 primeiros dias. Após os 3 dias, deve tomar-se 1 vez por dia,

de manhã, até completar a embalagem. Deve dissolver-se o conteúdo de um *stick* num copo de água e tomar, preferencialmente, de estômago e bexiga vazios, para melhorar a absorção.<sup>11</sup>

Além disto, sublinhei a importância da higiene íntima nestes casos, recorrendo a produtos adequados. Como entendi que a utente não utilizava nenhum produto para este efeito, aconselhei o uso diário de Lactacyd® Íntimo.<sup>12</sup>

Apelei à adoção de medidas não farmacológicas importantes como a ingestão abundante de água, não usar roupa muito apertada, não usar roupa íntima sintética e evitar o uso de pensos diários.

Como a senhora referiu que se tratava de uma situação recorrente, é importante apostar na prevenção. Assim, expliquei que, para além das medidas não farmacológicas, podia recorrer ao uso de produtos preventivos. Comecei por explicar que o próprio Cistiless® pode ser usado na prevenção destas ocorrências. Neste caso, deve ser feito 1 *stick* por dia, de manhã, até ao final da caixa e deve-se fazer uma embalagem por trimestre.<sup>11</sup> Há, no entanto, outras alternativas como é o caso dos produtos que têm na composição o arando vermelho, que possui proantocianidinas que vão dificultar a formação de biofilmes e a adesão bacteriana.

No final do atendimento, salientei que se os sintomas persistirem a utente deverá recorrer ao médico, onde após a análise à urina lhe seria prescrito o antibiótico mais adequado à situação.

## **Caso Clínico n.º2**

Uma jovem, na casa dos 20 anos, dirige-se à farmácia e afirma ter tido uma relação sexual desprotegida há 4 dias. Disse que não toma nenhum contraceptivo oral. Sabia que existia um método de contraceção de emergência adequado ao seu caso e pede que o mesmo lhe seja cedido.

Como a relação sexual tinha acontecido há 4 dias, dispensei a contraceção oral de emergência (COE) ellaOne®, um medicamento não sujeito a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia (MNSRM-EF). Esta COE tem como princípio ativo o acetato de ulipristal e a toma pode ser realizada até 120 horas (5 dias) após a relação sexual.<sup>13, 14, 15</sup>

Expliquei à utente que deveria tomar o comprimido único o mais rápido possível e que no caso de haver vômitos ou diarreia até 3 horas após a ingestão, a toma deveria ser repetida. Salientei ainda que a data da próxima menstruação podia sofrer alterações e que até lá deveria utilizar um método barreira, como o preservativo, durante as relações sexuais.<sup>13, 14, 15</sup>

### **Caso Clínico n.º3**

Um jovem, com cerca de 20 anos, chega à farmácia e afirma estar constipado. Diz que tem “o nariz muito entupido”, que está constantemente a assoar-se e que esta situação já se prolonga há alguns dias. Acrescenta que não tem mais sintomatologia associada.

Primeiramente, questionei se o utente fez a higiene nasal, ao qual ele respondeu negativamente. Assim sendo, o meu aconselhamento passou pela indicação da lavagem nasal e de um descongestionante nasal.

Expliquei ao utente que, numa primeira fase, devia realizar uma lavagem nasal e para isso foi indicado o sistema RinoDouche<sup>®</sup> que, para além de já auxiliar na diminuição da congestão nasal, elimina a mucosidade e as secreções. Trata-se de um dispositivo de irrigação e vem acompanhado de umas saquetas de sais e xilitol para se preparar a solução de lavagem. Esclareci que devia colocar o conteúdo de uma das saquetas na garrafa e encher a garrafa de água morna. Depois, tinha de inserir o adaptador nasal na narina, pressionar suavemente e o líquido saíria pela outra fossa nasal. Devia repetir esta ação nos dois orifícios nasais até esgotar toda a solução.

Para a congestão nasal propriamente dita, indiquei o Vibrocil<sup>®</sup> ActilongDuo<sup>16</sup>, que tem na constituição o cloridrato de xilometazolina, um descongestionante nasal, e o brometo de ipratrópio, que reduz as secreções nasais. Este produto é precisamente indicado para o tratamento da congestão nasal e rinorreia associada a constipações. Foi esclarecido que deve fazer uma pulverização em cada narina, no máximo 3 vezes por dia. Alertou-se que o descongestionante nasal só deve ser utilizado, no máximo, durante 5-7 dias, pois se excedermos este período poderá ocorrer o efeito *rebound* ou efeito contrário, ou seja, o nariz ficar mais entupido.

### **Caso Clínico n.º4**

Um senhor, com cerca de 40 anos, chega à farmácia e pede um medicamento para a diarreia. Questionei há quanto tempo esta situação ocorria e o utente respondeu que desde a noite anterior. Acrescentou que vai constantemente à casa de banho e que está prestes a iniciar um turno no trabalho. Não apresenta mais sintomatologia.

Perante a natureza da situação, recomendei o uso de Imodium<sup>®</sup> Rapid. Expliquei que deve tomar uma dose inicial de 2 comprimidos e depois deve tomar um comprimido por cada

dejeção líquida. A dose máxima por dia corresponde a 8 comprimidos. Alertei que se a situação não se resolvesse ao fim de 48 horas, deveria recorrer ao médico.<sup>17</sup>

Falei ainda sobre a importância das medidas não farmacológicas como a reposição de líquidos e eletrólitos e o cuidado com a alimentação.

### **Caso Clínico n.º5**

Uma senhora, com cerca de 60 anos, dirige-se à farmácia e pede que lhe observe as unhas dos pés, uma vez que algumas lhe parecem estar amareladas e estão todas quebradiças. Após observação, pude perceber que estava perante um caso de onicomicose ou infeção fúngica da unha.

Deste modo, indiquei o verniz medicamentoso Locetar<sup>®</sup> EF (MNSRM-EF), que possui ação fungistática e fungicida. Expliquei à utente que deve começar por limar as unhas afetadas, em seguida deve limpar essas unhas e, por fim, deve aplicar o verniz na superfície das unhas, com a ajuda de uma espátula fornecida, e deixar secar. A espátula deve ser limpa entre cada aplicação para evitar a contaminação do verniz. Este verniz é de aplicação semanal e o tratamento deve persistir ao longo de 12 meses.<sup>18,19</sup>

Para as unhas que não estão afetadas, mas estão quebradiças, aconselhei o uso do ISDIN Si-Nails<sup>®</sup>, que fortalece as unhas. Deve ser aplicado com movimentos verticais sobre as unhas limpas e ainda nas cutículas.<sup>20</sup>

## **Considerações Finais**

Após o EC na FB, concluo que a passagem pela farmácia comunitária é fulcral para compreender a verdadeira dimensão e a realidade da profissão.

O atendimento ao público é o exercício que obriga à reflexão e à aplicação dos conceitos científicos, contudo é também um momento de partilha, auxílio e confiança, no qual devemos exibir o nosso lado profissional, mas também o nosso lado humano e empático. Na verdade, somos pessoas a lidar com pessoas.

A importância do farmacêutico comunitário é indiscutível. É, muitas das vezes, o primeiro profissional de saúde a lidar com a pessoa e notabiliza-se enquanto prestador de cuidados primários de saúde.

Por detrás das “luzes que nunca se apagam”, existem profissionais de excelência cujo foco primordial é o bem-estar e a saúde do cidadão.

Neste estágio, pude absorver um arsenal de conhecimentos e experienciar uma série de situações que marcarão o meu futuro profissional.

## Referências Bibliográficas

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Farmácia Comunitária** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/>
2. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Boas Práticas de Farmácia Comunitária – Norma geral sobre o farmacêutico e pessoal de apoio** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma\\_geral\\_sobre\\_o\\_farmaceutico\\_e\\_o\\_pessoal\\_de\\_apoio\\_5695580485ab147f4836e5.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_geral_sobre_o_farmaceutico_e_o_pessoal_de_apoio_5695580485ab147f4836e5.pdf)
3. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **A Farmácia Comunitária – Norma geral sobre o farmacêutico e pessoal de apoio** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
4. PITA, J. R.; BELL, Victoria - A farmácia em Portugal nos últimos 30 anos. Algumas reflexões sobre a farmácia de oficina ou comunitária. *Debater a Europa*. 15 (2016) 197-215. doi:10.14195/1647-6336\_15\_11.
5. Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto. *Diário da República n.º 168/2007*, Série I. Ministério da Saúde. Lisboa.
6. Decreto-Lei n.º 172/2012, de 1 de agosto. *Diário da República n.º 148/2012*, Série I. Ministério da Saúde. Lisboa.
7. VALORMED – **Farmácia Comunitária e LVMNSRM** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.valormed.pt/paginas/13/spanfarmacia-comunitariaspan-e-span-lvmnsrm>
8. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Boas Práticas de Farmácia Comunitária – Norma específica sobre indicação farmacêutica** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/qualidade/of.c\\_n005\\_00\\_norma\\_especifica\\_sobre\\_indicacyayo\\_farmaceyutica\\_5541776765afd9c982f505.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/qualidade/of.c_n005_00_norma_especifica_sobre_indicacyayo_farmaceyutica_5541776765afd9c982f505.pdf)
9. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Desenvolvimento Profissional Contínuo** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/formacao-continua/desenvolvimento-profissional-continuo/>

10. INFARMED - **Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas\\_Dispensa/4c1aea02-a266-4176-b3ee-a2983bdf790](https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas_Dispensa/4c1aea02-a266-4176-b3ee-a2983bdf790)
11. CANTABRIA LABS - **Cistiless®** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.cantabrialabs.pt/produtos/ginecologia/cistiless/>
12. LACTACYD – **Lactacyd® Íntimo** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.lactacyd.pt/lactacyd/portfolio/lactacyd-intimo/>
13. INFARMED – **Protocolo de Dispensa Exclusiva em Farmácia do Ulipristal** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/2106346/Protocolo+de+Dispensa+Exclusiva+em+Farm%C3%A1cia+%28EF%29/3b756566-62c9-4d4f-8ff5-f62d0b179bc5?version=1.1>
14. EMA – **Resumo das Características do Medicamento** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ella-one-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ella-one-epar-product-information_pt.pdf)
15. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Boas Práticas de Farmácia Comunitária – Norma específica sobre a intervenção farmacêutica na Contraceção de Emergência** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/qualidade/norma\\_especifica\\_sobre\\_a\\_intervencao\\_farmaceutica\\_na\\_contracecao\\_de\\_emergencia\\_7929677925ab147ce85c39.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/qualidade/norma_especifica_sobre_a_intervencao_farmaceutica_na_contracecao_de_emergencia_7929677925ab147ce85c39.pdf)
16. VIBROCIL – **Vibrocil® ActilongDuo** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.vibrocil.pt/produtos-vibrocil/vibrocil-actilong-duo.html>
17. IMODIUM – **Imodium® Rapid** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.diarreia.pt/produtos/tratamentos-para-a-diarreia/imodium-rapid>
18. LOCETAR EF – **Locetar® EF** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: [https://www.locetar.pt/c/locetar/pt-como-utilizar?gclid=CjwKCAiArNOeBhAHEiwAze\\_nKFIjRpFUd3gUeL04\\_rjIej5UPOx5WqcXpoWMfkNM2UA\\_cbuFBxw8IRoCUqAQAvD\\_BwE](https://www.locetar.pt/c/locetar/pt-como-utilizar?gclid=CjwKCAiArNOeBhAHEiwAze_nKFIjRpFUd3gUeL04_rjIej5UPOx5WqcXpoWMfkNM2UA_cbuFBxw8IRoCUqAQAvD_BwE)
19. INFARMED – **Protocolo de Dispensa em Farmácia da Amorolfina** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/2106346/Protocolo+de+Dispensa+Exclusiva+em+Farm%C3%A1cia+%28EF%29+Amorolfina/0d9ef3f0-7eb0-4e53-9bf8-d54f22528362?version=1.0>
20. ISDIN – **ISDIN® Si-nails Fortalecedor de unhas** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.isdin.com/pt-PT/produto/si-nails/fortalecedor-de-unhas>

# Parte II

## Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Laboratório de Estudos Farmacêuticos (LEF) – Barcarena, Oeiras



Estágio sob a orientação da Dra. Sara Figueiredo

10 de janeiro de 2022 – 30 de março de 2022

## Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas

<b>ANF</b>	Associação Nacional das Farmácias
<b>EC</b>	Estágio Curricular
<b><i>E. coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>FFUC</b>	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
<b>GMP</b>	<i>Good Manufacturing Practices</i>
<b>IF</b>	Indústria Farmacêutica
<b>INFOSAÚDE</b>	Instituto de Formação e Inovação em Saúde S.A.
<b>INP&amp;CM</b>	Introdução de Novos Produtos e Controlo Microbiológico
<b>LEF</b>	Laboratório de Estudos Farmacêuticos
<b>RH</b>	Recursos Humanos
<b>SGS</b>	<i>Société Générale de Surveillance</i>
<b>SWOT</b>	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats</i>
<b>UC</b>	Unidades Curriculares

## Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) contempla inúmeras Unidades Curriculares (UC) dirigidas para as distintas saídas profissionais existentes. Entre as Análises Clínicas, os Assuntos Regulamentares, a Distribuição Farmacêutica, a Farmácia Comunitária, a Farmácia Hospitalar, a Farmacovigilância ou a Indústria Farmacêutica (IF), muitas são as áreas nas quais os estudantes podem ingressar futuramente. Assim, o último semestre do MICF compreende o estágio curricular (EC), com a finalidade de pôr em prática os conceitos estudados durante 5 anos e de viver a realidade da profissão.

Deste modo, é exigida uma passagem obrigatória pela área da Farmácia Comunitária, contudo a FFUC dá ainda a oportunidade de experimentar outros ramos do ofício durante o EC, podendo optar-se pela Farmácia Hospitalar ou pela IF.

A IF, em todas as suas vertentes, apresenta-se como uma área dinâmica e em constante evolução, que prova frequentemente a sua importância para a sociedade como pudemos conferir durante o recente episódio pandémico que experienciamos. É crucial para garantir a segurança contínua dos medicamentos e está estreitamente relacionada com o aumento da esperança de vida e da qualidade de vida das pessoas. Devido à minha preferência pessoal, ao facto de se revelar uma área tão abrangente, pertinente e desafiante e à possibilidade de poder realizar parte do EC em IF, ingressei como estagiária no Laboratório de Estudos Farmacêuticos, localizado em Barcarena.

O EC desenvolveu-se ao longo de 3 meses e decorreu entre os dias 10 de janeiro e 30 de março de 2022. Fui colocada no departamento de Introdução de Novos Produtos e Controlo Microbiológico (INP&CM), mais concretamente no setor da Microbiologia, e orientada pela Dra. Sara Figueiredo, responsável por este mesmo departamento. No setor da Microbiologia, estava sob supervisão da Dra. Rosalina Marques.

No presente relatório está descrito não só a instituição e o departamento onde decorreu o EC, mas também o trabalho desenvolvido ao longo dos 3 meses. Por último, é ainda apresentada uma Análise SWOT (do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), a qual ajuda a explicar os termos de funcionamento do Estágio e a descrever esta experiência.

## **I. Laboratório de Estudos Farmacêuticos**

O LEF insere-se na Unidade de Negócio INFOSAÚDE (Instituto de Formação e Inovação em Saúde S.A.) do grupo da Associação Nacional de Farmácias (ANF). Fundado em novembro de 1992, o LEF apresenta como principal missão a transformação da saúde pelo conhecimento farmacêutico.<sup>1</sup> Presta serviços no âmbito das Boas Práticas de Fabrico e Boas Práticas de Laboratório ao setor farmacêutico e atua essencialmente em áreas como o desenvolvimento farmacêutico, os medicamentos manipulados, o desenvolvimento e validação de métodos analíticos, o controlo de qualidade (nomeadamente através de ensaios microbiológicos) ou os estudos clínicos de bioequivalência e biodisponibilidade.<sup>2</sup>

Atualmente, a instituição está organizada em 8 departamentos, sendo estes o Departamento de Apoio às Farmácias, o Departamento de Controlo de Qualidade e Estabilidade, o Departamento de Desenvolvimento Analítico e Validação, o Departamento de Qualidade, Segurança e Ambiente, o Departamento de Desenvolvimento Farmacêutico e Produção, o Departamento de Assuntos Regulamentares e Farmacovigilância, o Departamento de Consultoria em Qualidade e, por fim, o Departamento de Introdução de Novos Produtos e Controlo Microbiológico (INP&CM).

### **I.1. Departamento de Introdução de Novos Produtos e Controlo Microbiológico**

O Departamento de INP&CM assume, por um lado, a análise físico-química de medicamentos de síntese química e de substâncias e produtos à base de canábis medicinal. Numa outra vertente, encarrega-se da execução dos ensaios microbiológicos, o que inclui não só a análise de medicamentos e amostras de canábis medicinal, como também a análise de águas, o controlo ambiental, a avaliação da eficácia dos conservantes, o controlo microbiológico de produtos não obrigatoriamente estéreis, a identificação de estirpes ou o desenvolvimento e validação de métodos microbiológicos.

Durante os 3 meses de EC, realizei tarefas como o auxílio no controlo de lotes pendentes da Microbiologia (alteração e atualização de documentos), o auxílio no estabelecimento de um *stock* mínimo de materiais indispensáveis à Microbiologia e a alteração e atualização de alguns procedimentos e impressos do LEF. No que toca ao trabalho prático desenvolvido no laboratório de Microbiologia, pude acompanhar processos como a filtração de águas, a calibração de elétrodos e medição de pH dos meios, as diluições e passagens, o controlo ambiental, a utilização do Vitek e também a identificação e pesquisa de diversos

microrganismos, essencialmente em amostras de canábis. Pude ainda executar autonomamente tarefas como a pesagem de amostras para análise, a preparação de meios de cultura, a contagem de colónias e a elaboração de esfregaços, coloração gram e observação microscópica.

No entanto, os dois principais trabalhos que me foram propostos passaram pelo desenvolvimento de protocolos para os métodos de deteção da *Shigella spp.* e da *Escherichia coli* O157 e pela reconciliação das pastas das amostras de canábis.

### **1.1.1. Desenvolvimento de protocolos para os métodos de deteção da *Shigella spp.* e da *Escherichia coli* O157**

O grande projeto do meu EC passou por tentar projetar um protocolo para a deteção de dois microrganismos para os quais o LEF ainda não tem um método validado, sendo este serviço atualmente subcontratado à *Société Générale de Surveillance* (SGS).

No laboratório de Microbiologia é feita a pesquisa e identificação de diversos microrganismos, como, por exemplo, a *Salmonella*, o *Staphylococcus aureus* e a *Pseudomonas aeruginosa*, todavia como os clientes do mercado israelita pedem a pesquisa da *Listeria monocytogenes*, da *Shigella spp.* e de uma estirpe específica da *Escherichia coli* (*E. coli*) nas amostras de canábis medicinal, já que se tratam de requisitos específicos daquele mercado, o objetivo passa por futuramente se conseguir instituir estes ensaios no laboratório de Microbiologia do LEF.

O meu trabalho focou-se no desenvolvimento do protocolo do método de deteção da *Shigella spp.* e da *E. coli* O157. Os protocolos foram feitos com base nas normas ISO 21567:2004(E): *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of Shigella spp.* e ISO 16654:2001/Amd.1:2017(E): *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of Escherichia coli* O157. Estas normas têm descritos todos os ensaios que se devem realizar, os reagentes e meios a utilizar, as temperaturas a seguir e os tempos de incubação, contudo estão voltadas para a deteção destes microrganismos em alimentos, ou seja, destinam-se à indústria alimentar. Como a nossa amostra é a canábis e as ISO aplicam-se, como foi referido anteriormente, a alimentos, foi preciso realizar uma pesquisa bibliográfica adicional para fazer as alterações necessárias precisamente a nível de reagentes, temperaturas, meios e equipamentos para compreender e restringir os testes a realizar, uma vez que se trata de matrizes muito diferentes.

Para além do estudo das normas ISO e da pesquisa para a elaboração e ajuste dos protocolos, ainda tive a oportunidade de fazer a procura dos fornecedores e preços para cada um dos materiais, meios e reagentes necessários, o que me permitiu ter uma perspetiva financeira sobre o assunto.

Ficou a faltar a parte prática deste desafio, isto é, perceber se os protocolos são viáveis e exequíveis através da validação dos mesmos e com vista a uma futura implementação no laboratório de Microbiologia.

### **1.1.2. Reconciliação de pastas**

Cada amostra que dá entrada no LEF possui pastas que reúnem informações sobre a mesma. As pastas de amostras de canábis medicinal são compostas por impressos de controlo de amostras psicotrópicas e estupefacientes, onde é registada a quantidade de amostra utilizada para a realização de cada ensaio e onde está indicado o analista que procedeu a cada um desses ensaios.

A reconciliação de pastas consiste no encerramento das pastas pertencentes a cada amostra, através da verificação dos dados inscritos nos impressos e devolução do que restou dessas amostras aos clientes.

Como a canábis é um estupefaciente é necessário controlar rigorosamente a quantidade de amostra usada e a quantidade não usada tem de ser enviada de volta ao cliente. Deste modo, o trabalho passou por pesar a quantidade que sobrou de todas as amostras, após a realização dos ensaios pedidos pelo cliente, e perceber se essa quantidade está correta ou se existem perdas inexplicáveis. Uma diferença até 5 gramas em amostras pequenas é aceitável, visto que existem sempre perdas. Uma diferença maior exige a abertura de uma investigação ao caso e justificação do ocorrido.

Assim, auxiliiei nas pesagens do remanescente das amostras, na conclusão do preenchimento dos impressos e ainda na organização dos armários destinados ao armazenamento das amostras de canábis.

## 2. Análise SWOT

A realização da Análise SWOT permite a identificação e avaliação dos principais aspetos que caracterizaram o meu EC, incidindo sobre os Pontos Fortes (*Strengths*), os Pontos Fracos (*Weaknesses*), as Oportunidades (*Opportunities*) e as Ameaças (*Threats*) que decorreram do mesmo.

**Tabela 2:** Análise SWOT correspondente ao estágio realizado em Indústria Farmacêutica.

<b>Pontos Fortes</b>	<b>Pontos Fracos</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Receção de boas-vindas aos estagiários;</li><li>• Aumento do conhecimento sobre a temática da canábis medicinal;</li><li>• Equipamento de trabalho e <i>e-mail</i> profissional;</li><li>• Relação com a equipa da Microbiologia.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Acesso às instalações do LEF;</li><li>• Duração do estágio;</li><li>• Pouco contacto com a execução analítica dos ensaios microbiológicos.</li></ul>
<b>Oportunidades</b>	<b>Ameaças</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Ambiente GMP;</li><li>• Consolidação de conhecimentos teóricos;</li><li>• Formações internas.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Distância entre o espaço de trabalho próprio e o da equipa da Microbiologia, com impacto sobre a comunicação;</li><li>• Falha na comunicação entre as partes envolvidas (FFUC/LEF/estagiária) sobre a data de início do estágio.</li></ul>

### 2.1. Pontos Fortes

#### 2.1.1. Receção de boas-vindas aos estagiários

No dia 10 de janeiro de 2022, dia em que iniciei o EC, fui recebida pela pessoa responsável pelos Recursos Humanos (RH) do LEF.

Esta sessão de acolhimento passou por uma explicação sobre os moldes de funcionamento do estágio e do LEF, bem como por uma exposição acerca do grupo ANF e do INFOSAÚDE.

Foi possível esclarecer as dúvidas existentes, dialogar sobre as minhas aspirações e perspetivas para esta etapa e trocar ideias sobre o motivo de me levou a eleger o LEF para realizar o meu EC.

Após esta reunião, foi possível conhecer as instalações do LEF e a Dra. Sara Figueiredo, a minha orientadora de estágio.

### **2.1.2. Aumento do conhecimento sobre a temática da canábis medicinal**

A temática da canábis medicinal revela-se muito atual, mas ainda suscita dúvidas e leva a diversos debates.

Poder seguir as amostras de canábis desde antes da entrada no LEF, através da monitorização pelas sondas e GPS dos veículos transportadores, passando pela execução dos ensaios pedidos pelos clientes e culminando na reconciliação destas amostras, levou-me a compreender as questões burocráticas, a importância do cumprimento da legislação em vigor e o controlo necessário para o manuseio deste estupefaciente.

### **2.1.3. Equipamento de trabalho e e-mail profissional**

Durante a minha primeira semana no LEF, foi-me disponibilizado um computador portátil com acesso à rede interna da instituição, podendo, deste modo, aceder à documentação oficial da instituição como, por exemplo, procedimentos, protocolos e legislação em vigor.

Tive ainda acesso a uma conta de e-mail profissional que me permitia não só comunicar facilmente com qualquer elemento pertencente ao LEF, como também assistir a formações que decorriam em regime *online*.

### **2.1.4. Relação com a equipa da Microbiologia**

A equipa da Microbiologia é liderada pela Dra. Rosalina Gaspar e composta por um total de 5 elementos.

Durante as duas últimas semanas de EC, frequentei mais regularmente o laboratório de Microbiologia e, desta forma, tive um maior contacto com a equipa. Apesar de se tratar de um tempo limitado, pude acompanhar diversos ensaios e realizar algumas tarefas, embora diminutas. Neste processo, senti-me sempre acompanhada por todos os membros da equipa de Microbiologia, que se prontificaram a auxiliar-me, a esclarecer as questões que surgiam e a explicar detalhadamente tudo o que acontecia no decorrer dos trabalhos.

## **2.2. Pontos Fracos**

### **2.2.1. Acesso às instalações do LEF**

Para aceder e sair das instalações do LEF, era necessário um cartão de identificação. Durante os 3 meses de EC não me foi cedido nenhum cartão, tratando-se de uma situação incómoda, principalmente para sair das instalações do LEF, pois como a instituição permite flexibilidade de horários, quando eu saía, por voltas das 18 horas, muitas vezes já não se encontrava ninguém na receção para me abrir a porta. Deste modo, tinha de aguardar ou tentar encontrar alguém que me pudesse abrir a porta. No mês de fevereiro, a campainha do exterior avariou, o que me levava a ter de ligar para a Dra. Sara Figueiredo ou para o LEF para conseguir entrar no edifício.

### **2.2.2. Duração do estágio**

Tendo em conta que o objetivo central do meu EC não foi totalmente concluído, ficando em suspenso a validação dos protocolos para os métodos de deteção da *Shigella spp.* e da *E. coli* O157, mais tempo seria necessário para terminar este trabalho.

Um estágio que contemplasse mais horas poderia levar à criação de novas oportunidades, tais como o maior envolvimento do estagiário nos projetos e um maior contacto com os restantes departamentos da instituição.

### **2.2.3. Pouco contacto com a execução analítica de ensaios microbiológicos**

Durante o decorrer dos dois primeiros meses de EC, o meu trabalho incidiu essencialmente sobre o estudo e avaliação de documentos e a pesquisa bibliográfica, ou seja, teve um cariz mais teórico.

Apesar da constante ligação à área da Microbiologia, só nas últimas duas semanas de estágio é que frequentei diariamente o laboratório, onde pude acompanhar diversos ensaios microbiológicos, bem como auxiliar na realização de algumas tarefas. É de notar que mesmo quando frequentava o laboratório, isto passava maioritariamente por um acompanhamento observacional.

Deste modo, o meu contacto com a componente prática da Microbiologia revelou-se diminuto, o que poderá ter igualmente resultado da duração reduzida do estágio.

## **2.3. Oportunidades**

### **2.3.1. Ambiente GMP**

O LEF assume um compromisso com a Qualidade e, deste modo, tem implementado o Sistema de Garantia de Qualidade ISO 14001, que se trata de um sistema de gestão ambiental, e as *Good Manufacturing Practices* (GMP) ou Boas Práticas de Fabrico.<sup>2</sup>

A instituição era habitualmente alvo de auditorias, de modo a assegurar o cumprimento da Lei, a execução das Boas Práticas, a aplicação de normas e a garantir o controlo da qualidade de todos os trabalhos efetuados.

Esta realidade e ambiente GMP contrasta, de certa forma, com o ambiente a que estava habituada, um ambiente académico, que existe nos laboratórios da Faculdade.

### **2.3.2. Consolidação de conhecimentos teóricos**

Uma vez que o meu EC decorreu quase na sua maioria na área da Microbiologia, foi fundamental recordar conceitos e técnicas lecionados na Unidade Curricular de Microbiologia Geral. Assim, a elaboração de esfregaços, a coloração gram, a contagem de colónias e a observação microscópica foram aspetos facilmente resolvidos devido ao conhecimento previamente adquirido.

### **2.3.3. Formações internas**

Durante o decorrer do estágio, pude estar presente em diversas formações internas, onde consegui compreender melhor a estrutura do LEF, bem como o seu funcionamento e políticas seguidas. Destaco duas formações, uma que incidia sobre o Sistema de Garantia de Qualidade, na qual pude recordar conceitos anteriormente aprendidos na faculdade, e uma segunda sobre Sensibilização Ambiental. Esta última abordava aspetos cada vez mais preocupantes para a sociedade atual e, como tal, tratou-se de uma formação mais intensiva, dividida em 5 módulos e sujeita a avaliação.

Pude ainda assistir a sessões voltadas para as pessoas que manuseavam a canábica medicinal, onde eram abordadas questões como os requisitos regulamentares.

## **2.4. Ameaças**

### **2.4.1. Distância entre o espaço de trabalho próprio e o da equipa da Microbiologia, com impacto sobre a comunicação**

O espaço de trabalho que me foi facultado para executar as tarefas propostas não se encontrava localizado no mesmo andar que a zona de trabalho concedida à equipa da Microbiologia. Como praticamente todo o projeto do meu EC passava pela área da Microbiologia, esta distância teve impacto na comunicação, dificultando, por vezes, o esclarecimento de dúvidas e o agendamento de idas ao laboratório.

### **2.4.2. Falha na comunicação entre as partes envolvidas (FFUC/LEF/estagiária) sobre a data de início do estágio**

Após serem disponibilizadas as vagas para a realização dos estágios e escolher fazer o meu estágio no LEF, contactei, via *e-mail*, a instituição com o intuito de obter algumas informações. O estabelecido pela FFUC era que o EC teria início a 10 de janeiro de 2022.

Posteriormente, fui contactada pela pessoa responsável pelos RH e ficou agendada uma reunião, via videoconferência. Esta reunião serviu para acordar alguns pontos referentes ao estágio e para esclarecimentos adicionais. Nessa mesma reunião, foi-me transmitido que, até ao meu contacto com o LEF, era esperado que o meu EC tivesse início apenas no mês de maio.

Apesar desta falha na comunicação, o estágio iniciou na data prevista, todavia isto implicou um atraso na elaboração do plano de estágio e, conseqüentemente, um atraso no início dos trabalhos.

## **Considerações Finais**

A Microbiologia no contexto da IF assume uma enorme relevância, já que desempenha um papel central no que respeita à eficácia e garantia de qualidade dos produtos e, desta forma, no que concerne à segurança das pessoas que irão tirar partido desses mesmos produtos.

Por sua vez, a indústria da canábis medicinal apresenta um crescimento exponencial nos dias que correm, intensificando-se a investigação científica em torno da planta. Em Portugal, o uso terapêutico da canábis é legal desde 2018 e o mesmo está regulamentado desde 2019.<sup>3</sup>

A oportunidade de conseguir trabalhar com ensaios microbiológicos aplicados à canábis medicinal constituiu uma mais-valia, pois fiquei a par de algumas das técnicas e procedimentos usados na análise da planta e foi-me possível interpretar alguma regulamentação que precisa de ser atendida.

Findo o EC, pude depreender que esta experiência, que envolveu o contacto com um ambiente muito diferente da realidade académica, se mostrou positiva e me munuiu de novos conhecimentos.

## Referências Bibliográficas

1. LEF – **Missão** [Acedido a 16 de junho de 2022]. Disponível em: <https://www.lef.pt/pt/LEF/missao>
2. LEF – **Quem somos** [Acedido a 16 de junho de 2022]. Disponível em: [https://www.lef.pt/pt/LEF/quem\\_somos](https://www.lef.pt/pt/LEF/quem_somos)
3. INFARMED – **Canábis para fins medicinais** [acedido a 16 de junho de 2022]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/canabis-medicinal>

# **Parte III**

## **Monografia**

### **“Perturbação do Ritmo Circadiano e Cancro: Foco no ROR”**

Sob orientação da Professora Doutora Maria Manuel Silva

## Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas

<b>5-FU</b>	5-fluorouracil
<b>5-HTP</b>	5-hidroxitriptofano
<b>13-HODE</b>	Ácido 13-hidroxiocetadecadienóico
<b>AANAT</b>	Arilalquilamina N-acetiltransferase
<b>ADME</b>	Absorção, distribuição, metabolismo e eliminação
<b>aMT6s</b>	6-sulfatoximelatonina
<b>BMALI</b>	<i>Brain and muscle ARNT-like 1</i>
<b>CLOCK</b>	<i>Circadian locomotor output cycles kaput</i>
<b>CRY</b>	<i>Cryptochrome</i>
<b>HIOMT</b>	Hidroxi-indol-O-metiltransferase
<b>IARC</b>	<i>International Agency for Research in Cancer</i>
<b>NSQ</b>	Núcleo supraquiasmático
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>PER</b>	<i>Period</i>
<b>RA</b>	Recetor de androgénio
<b>ROR</b>	<i>Retinoic acid receptor-related orphan receptor</i>
<b>RORE</b>	Elementos de resposta do ROR
<b>TIM</b>	<i>Timeless</i>

## Introdução

Sabe-se que a rotação da Terra corresponde a um período de 24 horas. Os organismos desenvolveram um relógio intrínseco para adaptar as funções fisiológicas aos ciclos ambientais de 24 horas do planeta. O ritmo circadiano é gerado por este relógio circadiano endógeno e acoplado à oscilação de sinais ambientais. Nos mamíferos, o relógio circadiano controla funções comportamentais e fisiológicas como o ciclo sono/vigília, o metabolismo, a secreção hormonal, a temperatura corporal, as respostas imunes e as funções neuronais, através do estabelecimento de ritmos circadianos.<sup>1</sup>

As mudanças nos estilos de vida devido à industrialização e à globalização económica no mundo moderno levaram a uma disrupção frequente da homeostase circadiana, que é associada a um aumento de doenças incluindo doenças cardiovasculares, síndrome metabólica, disfunção reprodutiva e neuroendócrina, deficiências imunológicas e cancro.<sup>2,3,4</sup>

Em 1729, o astrónomo francês Jean-Jacques de Mairan relatou, pela primeira vez, os ritmos endógenos associados aos movimentos persistentes das folhas das plantas, mesmo na ausência de luz. Todavia, desde essas observações iniciais, a pesquisa sobre ritmos circadianos foi mínima até a descoberta dos genes circadianos na *Drosophila*, na década de 1970, o que abriu as portas para a compreensão aprofundada dos relógios circadianos.<sup>2</sup> Já em 2017, Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash e Michael W. Young foram galardoados com o Prémio Nobel da Fisiologia ou Medicina pela descoberta dos mecanismos moleculares que controlam o ritmo circadiano.<sup>30</sup>

O ritmo circadiano tem sido um alvo emergente para a prevenção e tratamento do cancro. Nos últimos anos, um número crescente de estudos investigou a ideia de explorar os relógios circadianos para a terapia do cancro, modulando a atividade das moléculas do relógio circadiano e otimizando o tempo de administração dos fármacos anticancerígenos de acordo com o ritmo circadiano de cada pessoa.<sup>5</sup> Levar em conta estes ritmos biológicos para aumentar o índice terapêutico, com melhora concomitante da atividade e segurança, constitui a justificação para a administração de medicamentos com base no ritmo circadiano.<sup>6</sup>

## **I. Ritmo circadiano**

O ritmo circadiano consiste em oscilações biológicas que ocorrem a cada 24 horas. Presente em humanos, animais, plantas e até bactérias, o relógio circadiano é responsável pelo controlo de diversos processos metabólicos, fisiológicos e comportamentais. Acredita-se que o ritmo circadiano tenha evoluído em resposta ao ciclo diário de luz/escuridão como um mecanismo que sintonizou os organismos com o período natural da rotação da Terra.<sup>7</sup> Nos humanos, esse ritmo caracteriza a maioria dos parâmetros fisiológicos como sono/vigília, repouso/atividade, pressão arterial, temperatura corporal, apetite, metabolismo energético, funções hormonais e imunológicas, proliferação celular, entre as muitas variáveis biológicas que desempenham um papel no bem-estar. Distúrbios nesses ritmos biológicos causados por privação do sono, alimentação noturna ou *jet lag* estão intimamente associados ao desenvolvimento de distúrbios do sono e do humor, obesidade, diabetes e cancro. As perturbações genéticas e ambientais dos ritmos circadianos alteram amplamente a expressão e a atividade de vários supressores de tumor e oncogenes favorecendo, deste modo, a incidência e progressão do cancro.<sup>5</sup>

De facto, os ritmos circadianos exibem períodos precisos de 24 horas, seguindo a sua sincronização com os ciclos ambientais de 24 horas. A produção e a manutenção do ritmo circadiano são reguladas pelos genes do relógio circadiano.<sup>8</sup>

O relógio central é gerado e mantido no núcleo supraquiasmático (NSQ) do hipotálamo, mas também existem relógios secundários nos tecidos periféricos (por exemplo, no fígado, rim, pele, intestino, pulmão, pâncreas e coração).

Os relógios genéticos controlam ritmicamente a proliferação, a reparação do DNA e a apoptose, entre outras funções críticas para os processos de cancro. O relógio circadiano molecular regula ciclicamente a maioria dos processos que constituem os *hallmarks* do cancro, bem como vários determinantes farmacocinéticos e farmacodinâmicos de fármacos anticancerígenos.<sup>6</sup>

### **I.1. Mecanismo molecular do ritmo circadiano**

A arquitetura básica dos mecanismos do ritmo circadiano em todas as espécies é tipicamente caracterizada por um *loop* de *feedback* autorregulatório.<sup>9</sup> Nos mamíferos, o sistema circadiano representa um sistema regulador integral composto por relógios circadianos hierarquicamente organizados. O relógio molecular, que consiste nos padrões de

expressão oscilatória dos genes do relógio central, é um relógio autónomo da célula capaz de manter um ritmo intrínseco de 24 horas. A complexidade regulatória resulta do facto dos relógios circadianos periféricos estarem presentes em quase todas as células dos mamíferos.<sup>10</sup> Essas células do relógio são equipadas com um conjunto de genes indispensáveis para a função circadiana, denominados genes do relógio.<sup>8</sup>

A maquinaria do relógio central é composta por uma rede autorregulatória que consiste em *loops* de *feedback* de transcrição-tradução positivos e negativos. Os fatores de transcrição *circadian locomotor output cycles kaput* (CLOCK) e *brain and muscle ARNT-like 1* (BMAL1) são os principais impulsionadores das oscilações circadianas na expressão genética e formam um heterodímero. O complexo ativador transcricional CLOCK/BMAL1 liga-se a E-boxes no promotor dos genes *Period* (Per1, Per2, Per3) e *Cryptochrome* (Cry1, Cry2) e conduz ciclicamente a transcrição destes genes e de outros genes controlados pelo relógio. As proteínas PER e CRY, que são reguladores negativos do ciclo circadiano, formam um complexo repressor (heterodímero) e ao atingir uma concentração crítica no final do dia translocam-se do citoplasma para o núcleo para reprimir a atividade transcricional do heterodímero CLOCK/BMAL1, criando, deste modo, um *loop* de *feedback* negativo. É a ativação diurna de CLOCK/BMAL1 que determina a acumulação das proteínas PER e CRY. A ubiquitina ligase promove a degradação de PER e CRY no final da noite, facilitando a degradação do complexo inibitório e sinalizando o término do estado repressor, permitindo o início de um novo ciclo de transcrição por CLOCK/BMAL1. Forma-se, assim, o principal *loop* de *feedback* negativo. O oscilador central é complementado por um segundo *loop* composto pelos recetores nucleares REV-ERB (REV-ERB $\alpha$  e REV-ERB $\beta$ ) e *retinoic acid receptor-related orphan receptor* (ROR – ROR $\alpha$ , ROR $\beta$ , ROR $\gamma$ ), que regulam diretamente o *loop* de *feedback* central. REV-ERB $\alpha$  e REV-ERB $\beta$  ativam a transcrição de BMAL1 enquanto que ROR $\alpha$  a reprime por ligação direta a elementos de resposta do ROR (RORE). A importância destes reguladores do relógio é enfatizada pela observação de que CLOCK/BMAL1 controla a expressão de aproximadamente 10% dos genes controlados pelo relógio, que regulam processos moleculares, bioquímicos e fisiológicos. Estes mecanismos conferem ritmo às funções celulares e metabólicas para manutenção homeostática.<sup>2, 5, 8, 10, 11</sup>

O gene *Timeless* (TIM), originalmente identificado na *Drosophila*, está envolvido no mecanismo molecular e numa série de processos fisiológicos, como o desenvolvimento embrionário, a progressão do ciclo celular, a replicação do DNA e a resposta ao dano do DNA. O TIM funciona no braço negativo do *loop* de *feedback*, envolvendo as proteínas PER e CRY, e é necessário para manter o ritmo.<sup>10</sup>



componentes do relógio são mais propensas a alterar o ritmo circadiano normal em tecidos específicos, o que pode explicar a incidência de tumores específicos do tipo de tecido em murganhos mutantes circadianos.<sup>1</sup>

### 1.3. Impacto da disrupção do ritmo circadiano no desenvolvimento do cancro

As contribuições da disrupção do relógio circadiano e da expressão aberrante dos genes do relógio para o desenvolvimento do cancro também foram estudadas extensivamente. Estudos epidemiológicos com indivíduos que trabalham por turnos sugerem uma correlação entre a suscetibilidade para o cancro e a desregulação da homeostase circadiana. Estudos usando modelos animais mutantes dos genes circadianos mostraram que a disrupção dos genes do relógio, incluindo *Per1*, *Per2*, *Cry1*, *Cry2* e *BMAL1*, leva à formação aumentada de tumores.<sup>4</sup>

**Tabela 3:** Estudos que evidenciam a associação entre o cancro e as perturbações do ritmo circadiano.<sup>2</sup>

	Tipo de cancro	Descobertas principais	Modelo
Trabalho por turnos	Próstata	<ul style="list-style-type: none"> <li>Risco aumentado de cancro observado em trabalhadores noturnos do sexo masculino.</li> <li>A agressividade da doença correlacionou-se com a duração do turno da noite.</li> </ul>	Humano
	Retal	<ul style="list-style-type: none"> <li>O risco aumentou significativamente com a duração do turno de trabalho, sugerindo que a disrupção circadiana a longo prazo pode desempenhar um papel no desenvolvimento do cancro.</li> </ul>	Humano
	Mama	<ul style="list-style-type: none"> <li>O trabalho noturno a longo prazo foi associado a um maior risco de cancro, particularmente entre as mulheres que realizaram trabalho por turnos quando eram jovens-adultas.</li> </ul>	Humano
	Mama	<ul style="list-style-type: none"> <li>O trabalho noturno aumenta o risco de cancro em mulheres na pré-menopausa, principalmente aquelas com exposição de alta intensidade e longa duração.</li> </ul>	Humano
	Mama	<ul style="list-style-type: none"> <li>Os animais expostos à luz/escurecimento mostraram uma diminuição na supressão do tumor.</li> </ul>	Rato
Luz artificial	Mama	<ul style="list-style-type: none"> <li>Redução na secreção de melatonina devido à poluição luminosa pode afetar significativamente a prevalência do cancro.</li> </ul>	Humano
	Ovário	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aumento da expressão de NF-kB, promotor da proliferação de células tumorais.</li> </ul>	Peixe-zebra

<b>Dieta</b>	Mama	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Uma maior duração do jejum noturno em mulheres foi associada à melhoria da regulação glicêmica e à redução do risco de cancro.</li> </ul>	Humano
	Próstata e mama	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A adesão a um padrão alimentar mais diurno e, especificamente, a existência de um longo intervalo entre a última refeição e o sono está associado a um menor risco de cancro.</li> </ul>	Humano

O relógio circadiano controla diversos processos celulares, incluindo o ciclo celular, a resposta a danos no DNA e a apoptose, regulando genes como p16, p21, ciclina D1, Wee1 e p53. Essas ligações moleculares apoiam ainda mais a noção de que a interrupção circadiana promove fenótipos de cancro, como a proliferação rápida, o comprometimento da reparação do DNA e a resistência à apoptose. Dada a importância potencial dos processos de desdiferenciação na carcinogênese, é fundamental entender os efeitos das mudanças epigenéticas globais no relógio circadiano e como o relógio circadiano é regulado nas células cancerígenas em desenvolvimento.<sup>4</sup>

Vários tipos de células cancerígenas demonstraram falta de um relógio circadiano funcional, verificando-se a disfunção do relógio circadiano na oncogênese. Por exemplo, a expressão de Per1, Per2 e/ou Per3 está alterada no cancro colorretal, pancreático, gástrico, oral, da mama e do pulmão de não pequenas células, bem como em glioma, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço e leucemia mieloide. Embora os mecanismos subjacentes sejam incertos, a regulação epigenética foi sugerida como uma possibilidade, já que as regiões promotoras dos genes do relógio central, incluindo Per1, Per2, Cry1 e BMAL1, são hipermetiladas em alguns tipos de cancro.<sup>4</sup>

### **1.3.1. Controlo circadiano do metabolismo do tumor**

As células cancerígenas adaptaram métodos alternativos de produção de energia, de modo que as taxas de glicólise aeróbica são elevadas para manter as necessidades energéticas do tumor (efeito Warburg). Uma visão da reprogramação metabólica das células cancerígenas, além da glicólise, também inclui o aumento do metabolismo da glutamina para lipogénese, que é necessário para a síntese e proliferação de membranas, oxidação beta de ácidos gordos para produção de energia e dependência da metionina, necessária para reações de metilação e síntese de poliaminas. O relógio circadiano está fortemente implicado no controlo metabólico e vários metabolitos como a glicose e os ácidos gordos exibem ritmos diurnos. É concebível que, como as células cancerígenas consomem muita energia, uma possível perda ou

desregulação do controlo metabólico circadiano pode levar à exacerbação da proliferação celular em células cancerígenas. Os mecanismos subjacentes permanecem desconhecidos, mas fatores como p53, Ras e c-Myc, que estão implicados no controlo do relógio, também são conhecidos por regular os processos metabólicos nas células tumorais.<sup>12</sup>

## 2. Papel dos intervenientes do ritmo circadiano no cancro

Há uma estreita interação entre a maquinaria do relógio circadiano e o ciclo celular, a reparação do DNA, a apoptose, a senescência, a autofagia e outras vias oncogénicas e imunes. As perturbações circadianas desregulam esses processos, levando à proliferação descontrolada, fuga da apoptose, disseminação metastática, evasão imune, angiogénese aumentada e resistência a fármacos antitumorais (*hallmarks* do cancro).<sup>5</sup>

### 2.1. REV-ERB e ROR

A expressão aberrante dos REV-ERBs foi encontrada em muitos tipos de cancro, nos quais eles regulam principalmente o nível de glicose plasmática, lípidos e metabolismo energético. GSK4112, uma sonda molecular, também conhecida como SR6452, foi o primeiro agonista sintético do REV-ERB obtido para inibir a transcrição do BMAL1. No entanto, o perfil farmacocinético insatisfatório e a especificidade do GSK4112 limitaram o seu uso como ferramenta química *in vivo*, o que impulsionou o desenvolvimento dos derivados de pirrol SR9009 e SR9011. Foi relatado que esses dois agonistas do REV-ERB exibem atividade antitumoral contra diferentes tipos de tumor, incluindo leucemia, cérebro, cólon, mama e melanoma.<sup>13</sup>

Ao contrário dos REV-ERBs, os RORs (incluindo ROR $\alpha$ , ROR $\beta$  e ROR $\gamma$ ) podem induzir a transcrição de BMAL1. Há evidências que mostram que o ROR $\gamma$  está regulado positivamente no cancro da próstata metastático resistente à castração e promoveu a expressão do recetor de androgénio (RA), aumentando assim a possibilidade de direcionar o ROR $\gamma$  para o tratamento do cancro. Os agonistas de ROR $\gamma$  podem modular múltiplas vias de sinalização para aumentar a imunidade antitumoral contra leucemia, cancro do cólon e da mama.<sup>13</sup> SR1078, um agonista de ROR $\alpha$ , afeta as vias metabólicas nas células de hepatoma e inibe o crescimento do hepatoma, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. LYC-55716 (cintirorgon), um agonista de ROR $\gamma$ , aumentou a atividade imunológica das células T e também diminuiu a supressão imunológica em microambientes tumorais. O LYC-55716 já demonstrou um perfil

de segurança favorável e foi testado em tumores sólidos e em combinação com pembrolizumabe em pacientes com cancro do pulmão de não pequenas células.<sup>3</sup>

### 2.1.1. Importância dos RORs

Os RORs são reguladores importantes em vários tipos de cancro devido ao seu papel fundamental na imunidade, no ritmo circadiano e na homeostase metabólica.<sup>14</sup>

Verificou-se que o ROR $\alpha$  está regulado negativamente no cancro da pele e é expresso em células de cancro da próstata, linhas celulares de melanoma e cancro da mama. O ROR $\alpha$  está envolvido na inibição da proliferação celular como um supressor tumoral. Em células de hepatocarcinoma humano, o ROR $\alpha$  encontra-se regulado positivamente após a indução de hipoxia. Também foi determinado que está envolvido na reprogramação do metabolismo da glicose e na inibição do crescimento do hepatomacarcinoma *in vitro* e em modelos de xenoenxerto *in vivo*. A produção de mRNA do ROR $\alpha$  em pacientes com cancro colorretal permaneceu inalterada, enquanto a fosforilação do ROR $\alpha$  foi reduzida e pode estar envolvida na progressão do cancro do cólon. No cancro da mama o ROR $\alpha$  foi subregulado e a baixa expressão do mRNA do ROR $\alpha$  foi associada a um mau prognóstico. O ROR $\alpha$  é frequentemente considerado um repressor.<sup>14</sup>

A expressão natural do ROR $\beta$  é exclusivamente restrita aos tecidos neuronais, portanto, a ativação da transcrição de ROR $\beta$  é predominantemente encontrada em linhagens celulares de neuroblastoma. O leiomiossarcoma uterino mostrou alta expressão de ROR $\beta$  e as células de cancro colorretal mostraram expressão modulada de ROR $\beta$ . O ROR $\beta$  foi relacionado à metástase em um modelo de células de cancro colorretal metastático.<sup>14</sup>

Por sua vez, o ROR $\gamma$  e as suas isoformas são amplamente encontrados em doenças hematológicas, cancro da mama, cancro da pele, cancro do pulmão, carcinoma hepatocelular, cancro gastrointestinal e cancro geniturinário.<sup>14</sup>

## 2.2. BMAL1 e CLOCK

Vários estudos demonstraram o envolvimento direto dos genes do relógio na predisposição e progressão do cancro. Demonstrou-se que a inativação epigenética ou genética de BMAL1 e/ou Clock aumenta a proliferação tumoral ou as taxas de crescimento em vários tipos de cancro, como cancro hematológico, cancro do cólon, cancro do pâncreas,

carcinoma de células escamosas da língua, cancro da mama, adenocarcinoma do pulmão, carcinoma hepatocelular, carcinoma nasofaríngeo e glioblastoma. Por outro lado, a sobreexpressão desses ativadores circadianos suprime fenótipos proliferativos e malignos em células tumorais por meio de mecanismos que envolvem paragem do ciclo celular e apoptose dependente do p53.<sup>5</sup>

### **2.3. Per e Cry**

A regulação negativa ou positiva de Per1, Per2 e Cry1, os principais genes-alvo de BMAL1/CLOCK, demonstrou promover ou suprimir a incidência e a proliferação de tumores, respetivamente, em vários tipos de células cancerígenas, células de carcinoma mamário, cancro do pâncreas, carcinoma do pulmão, leucemia, glioma, cancro do ovário e carcinoma oral de células escamosas. Sugere-se que o potencial mecanismo anticancerígeno exercido por PER1/2 envolva a inibição da glicólise mediada por PI3K/AKT/mTOR, bem como a paragem do ciclo celular e a indução de apoptose.<sup>5</sup>

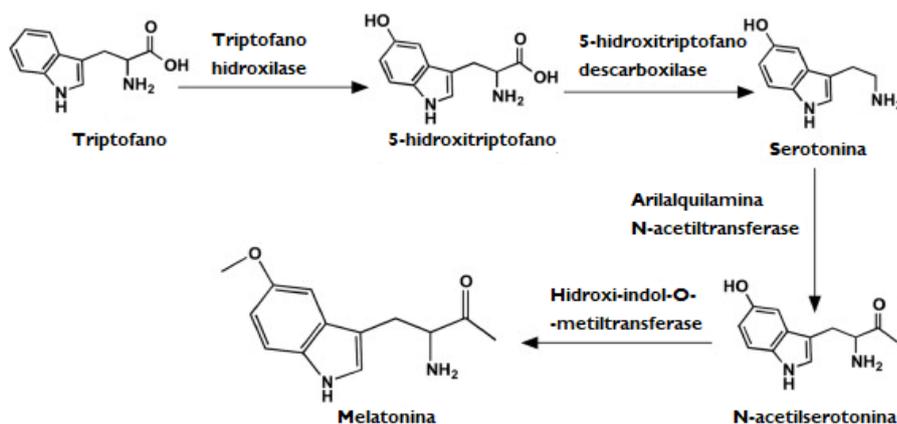
A expressão diminuída e o polimorfismo dos genes circadianos centrais Per1, Per2 e Per3 são frequentemente encontrados em cancro da mama, endométrio, próstata, pâncreas, colorretal e pulmão de não pequenas células, bem como carcinoma hepatocelular, glioma e leucemia mieloide aguda. Na leucemia mieloide aguda, cancro da mama, cancro do endométrio e cancro do pulmão de não pequenas células, essa desregulação está frequentemente ligada à hipermetilação das ilhas CpG ou à acetilação aberrante nos promotores dos genes Per, o que leva ao silenciamento génico.<sup>15</sup>

A desregulação ou polimorfismo de Per1, Per2 e Per3, Cry1 e Cry2, são frequentemente encontrados em cancro humanos da próstata, pâncreas, ovário, leucemia, mesotelioma pleural, carcinoma hepatocelular e glioma.

## **3. Melatonina**

A melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) foi descoberta e isolada da glândula pineal bovina por Aaron Lerner, em 1958. Trata-se de uma indolamina e é a principal hormona segregada pela glândula pineal, sendo produzida à noite, em resposta à escuridão, sob o controlo do NSQ. O NSQ é considerado o *pacemaker* circadiano, sincronizando a libertação de melatonina com o ritmo do ciclo claro/escuro diário. A melatonina modula as oscilações do relógio central, localizado no NSQ, e dos relógios periféricos, que se encontram dispersos

pelo organismo.<sup>10</sup> A melatonina deriva da serotonina através da via biossintética triptofano-serotonina e é sintetizada principalmente pelos pinealócitos a partir do aminoácido triptofano, que é hidroxilado (pela triptofano hidroxilase) em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) e depois descarboxilado (pela 5-hidroxitriptofano descarboxilase) em serotonina. Há duas enzimas que transformam a serotonina em melatonina – a serotonina é primeiro acetilada pela enzima arilalquilamina N-acetiltransferase (AANAT) para formar a N-acetilserotonina e, posteriormente, a N-acetilserotonina é metilada pela enzima hidroxi-indol-O-metiltransferase (HIOMT) para formar a melatonina.<sup>16, 17</sup> Fontes extrapineais de melatonina foram relatadas na retina, células da medula óssea, plaquetas, pele, linfócitos, glândula de Harder, cerebelo e especialmente no trato gastrointestinal de espécies vertebradas. A concentração de melatonina no trato gastrointestinal transpõe os níveis sanguíneos em 10-100 vezes e há pelo menos 400 vezes mais melatonina no trato gastrointestinal do que na glândula pineal.<sup>17</sup>



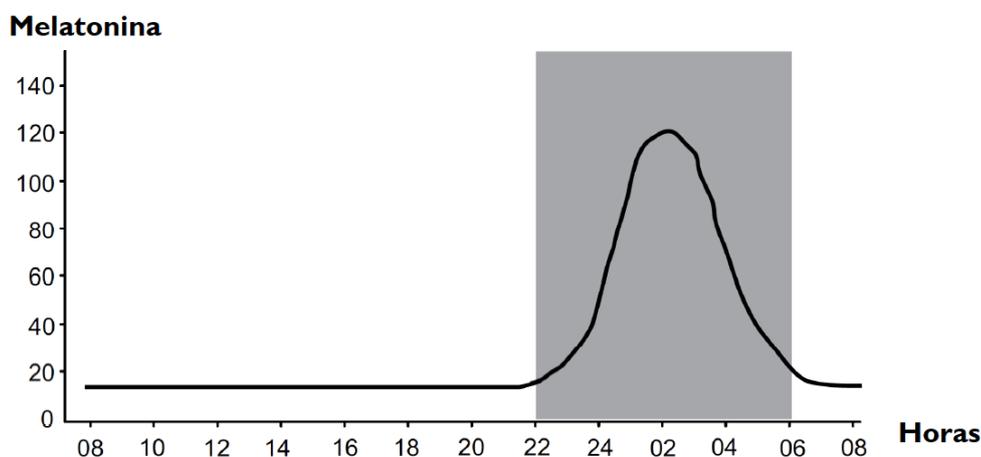
**Figura 2:** Biossíntese de melatonina.

A melatonina atua através de dois receptores específicos que pertencem à família da proteína G – MT1 e MT2. Ainda assim, como constitui uma pequena molécula lipofílica, ela pode entrar nas células diretamente para exercer efeitos não dependentes de receptores, como por exemplo, a neutralização antioxidante de radicais livres.<sup>18</sup> Possui ainda ações mediadas pela ligação a receptores nucleares – RZR/ROR.

A monitorização e regulação do ritmo circadiano é apenas uma das muitas funções da melatonina, que também possui atividades imunomoduladoras, anti-inflamatórias, antioxidantes, vasorreguladoras e de inibição do crescimento de células cancerígenas.<sup>19</sup>

### 3.1. Melatonina, ritmo circadiano e cancro

Como já foi referido anteriormente, a produção de melatonina pineal é regulada pelo ciclo claro/escuro. A taxa de produção de melatonina é muito baixa durante o dia e ascende à noite, atingindo o pico entre as 2 e as 4 horas da manhã. Seguidamente, diminui gradualmente. Cerca de 80% da melatonina é sintetizada à noite, com concentrações séricas variando entre 80 e 120 pg/ml. Durante o dia, as concentrações séricas variam entre 10-20 pg/ml. O fator idade influencia as concentrações de melatonina.<sup>17</sup>



**Figura 3:** Produção de melatonina – O pico é atingido por volta das 2h da manhã.<sup>17</sup>

A ligação entre a glândula pineal e a luz começa na retina que recebe a luz e envia os sinais através do trato retino-hipotalâmico para o NSQ.<sup>19</sup> O sistema circadiano é perturbado pela exposição à luz durante a noite, com supressão proporcional da produção de melatonina e desregulação dos genes circadianos, que têm sido implicados no desenvolvimento de cancro, incluindo cancro da mama, cancro da próstata, cancro do cólon e cancro do pulmão.<sup>2, 20</sup> Esta exposição à luz durante o período noturno pode resultar em cronodisrupção e além de estimular o crescimento de tumores, aumenta ainda a resistência a fármacos anticancerígenos.<sup>5</sup> Quando os níveis séricos de melatonina são  $\leq 39,5$  pg/mL levam a um aumento de 15 vezes no risco de desenvolvimento de cancro da mama em comparação com indivíduos com níveis séricos mais altos de melatonina. Altos níveis na urina do metabolito primário da melatonina 6-sulfatoximelatonina (aMT6s) parecem estar associados a um menor risco de cancro da mama, cancro colorretal, cancro do pulmão e cancro do estômago.<sup>21</sup> Nos homens, os níveis de aMT6s urinários abaixo da média aumentam o risco de cancro da próstata 4 vezes em comparação com indivíduos com níveis normais. Além disso, altos níveis séricos de melatonina

estão associados a baixa incidência de cancro de próstata. Uma associação semelhante para cancro do ovário também foi observada em mulheres.<sup>19</sup>

A melatonina inibe a atividade catalítica da mieloperoxidase, que é importante na patogênese do cancro. Adicionalmente, inibe a transdução do sinal do tumor e a atividade metabólica das células cancerígenas, levando à supressão do crescimento do cancro da mama por meio da ativação do recetor de melatonina MT1 (a ligação da melatonina ao seu recetor MT1 modula as vias implicadas no cancro).<sup>20, 22</sup>

Estudos em indivíduos que trabalham em turnos noturnos revelam uma perturbação da estrutura circadiana, podendo apresentar níveis alterados de melatonina noturna e perfis de hormonas reprodutivas que podem aumentar o risco de doenças dependentes de hormonas, como o cancro da mama.<sup>23, 24</sup> Os primeiros estudos sobre trabalho por turnos e cancro humano foram propositadamente projetados para testar a teoria de que a luz noturna promove o cancro de mama. Em 1987, foi formulada a “hipótese da melatonina” e esta teoria propõe que a exposição à luz noturna reduz a produção de melatonina e, por sua vez, aumenta a produção de estrogénio, levando a um maior risco de cancro da mama.<sup>7, 18</sup> As mulheres que trabalham à noite têm menor excreção urinária noturna de melatonina, o que indica o grau de disrupção circadiana, e têm um maior risco de cancro da mama (6 a 20%)<sup>2</sup> em comparação com mulheres que trabalham durante o dia. O mesmo se verifica com a propensão ao cancro do endométrio. As concentrações de melatonina também diminuem progressivamente após a quimioterapia padrão em pacientes com esta patologia.<sup>22</sup>

Em 2007 e em 2019, a *International Agency for Research in Cancer* (IARC) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), respetivamente, categorizaram o “trabalho por turnos que envolve disrupção circadiana como provavelmente cancerígeno para humanos”.<sup>25</sup>

Em suma, diversos estudos sugerem que a regulação circadiana dos níveis plasmáticos de melatonina é importante para uma ampla gama de atividades fisiológicas e metabólicas<sup>2</sup> e que a disrupção do ritmo circadiano e a supressão de melatonina contribuem para o desenvolvimento do cancro.<sup>26</sup>

### **3.2. Melatonina e os *hallmarks* do cancro**

O conceito de *hallmarks* do cancro foi proposto pela primeira vez por Hanahan e Weinberg, em 2000. Os *hallmarks* resumiam as capacidades biológicas exigidas pelas células para iniciar o processo de conversão de células normais a células cancerígenas.<sup>19</sup>

Em 2000, Hanahan e Weinberg propuseram seis *hallmarks* – capacidade de proliferação, fuga aos supressores de crescimento, capacidade de invadir outros tecidos e metástase, imortalidade replicativa, indução da angiogênese e resistência à morte celular (apoptose). Mais tarde, foram adicionados mais quatro *hallmarks*, – ser genomicamente instável, energia celular alterada, promoção de inflamação pelo tumor e capacidade de escapar à vigilância e destruição por parte do sistema imune – perfazendo um total de dez.<sup>27</sup>

Durante as últimas décadas, muitos estudos esclareceram a atividade anticancerígena da melatonina. Esta hormona pode exercer o efeito anticancerígeno por meio de mecanismos recetores dependentes e mecanismos recetores independentes. Os recetores da melatonina estão envolvidos na mediação do efeito anticancerígeno pela inibição da captação de ácido linoleico e consequente supressão da formação do potente mitogénico e importante estimulante do crescimento tumoral ácido 13-hidroxi-octadecadienóico (13-HODE)<sup>19</sup> – ocorre a restrição pela melatonina da captação de ácidos gordos em potenciais precursores tumorais, inibindo uma etapa inicial na via de promoção do crescimento tumoral dependente do ácido linoleico, suprimindo, deste modo, a formação do 13-HODE.<sup>18</sup> Já os efeitos anticancerígenos independentes dos recetores da melatonina envolvem diversos mecanismos, incluindo a alteração do metabolismo do cancro. Além disto, a melatonina foi usada como terapia adjuvante para aumentar os efeitos anticancerígenos de diferentes agentes. Não está claro se os efeitos anticancerígenos observados da melatonina são, pelo menos parcialmente, devidos à restauração do tempo circadiano funcional, ou se esses efeitos podem ser atribuídos exclusivamente ao efeito antioxidante, antiproliferativo, pró-apoptótico, antiangiogénico ou às funções imunomoduladoras da melatonina.<sup>19</sup>

#### **4. Terapêutica – Aplicação da terapia associada ao relógio circadiano no tratamento do cancro**

A ciência do ritmo circadiano levou a três abordagens para a prevenção e tratamento de múltiplas doenças, incluindo o cancro – o sono, a dieta e a administração dos fármacos na hora adequada. Manter um ritmo circadiano robusto por meio de padrões comportamentais diários consistentes no sono e na alimentação pode reduzir significativamente o risco de cancro. Por outro lado, a administração dos fármacos na fase apropriada do ritmo circadiano do paciente pode reduzir potencialmente os efeitos adversos e melhorar o prognóstico.<sup>1</sup>

Evidências recentes apoiam um papel fundamental do relógio circadiano no início e na progressão do cancro. As alterações metabólicas e de sinalização comumente encontradas

em tumores podem levar à disrupção dos ritmos do relógio circadiano e alterar a expressão dos genes do relógio. Uma disrupção do relógio pode aumentar ainda mais a progressão do tumor através de uma variedade de mecanismos moleculares.<sup>10</sup> A perda da homeostase circadiana não promove apenas o desenvolvimento do cancro, mas também está associada ao mau desempenho nos tratamentos anticancerígenos e à mortalidade precoce entre os pacientes com cancro.<sup>15</sup>

Assim, ter como alvo o relógio circadiano pode constituir uma ferramenta poderosa para controlar a tumorigénese, uma vez que é relatado que muitos processos celulares relacionados ao cancro, como o ciclo celular, proliferação celular ou apoptose, são controlados pelo relógio circadiano.<sup>28</sup>

A compreensão molecular do ritmo circadiano abriu novas fronteiras terapêuticas para o cancro e, deste modo, a modulação farmacológica do relógio circadiano pode ter potencial como nova opção terapêutica para um melhor controlo do cancro.<sup>12</sup>

#### **4.1. Cronoterapia – otimização da administração de medicamentos**

A quimioterapia, usando um ou mais fármacos citotóxicos, juntamente com a radioterapia ou cirurgia constitui uma das estratégias mais comuns para a terapêutica antitumoral. Como os fármacos usados na quimioterapia visam indiscriminadamente tanto as células cancerígenas quanto as células não tumorais surgem efeitos colaterais que comprometem o tratamento. Deste modo, aumentar ao máximo a eficácia do tratamento e proteger os tecidos normais do doente são os maiores desafios para tratamentos antitumorais bem-sucedidos. A maioria dos processos biológicos que suportam o crescimento tumoral também são essenciais para as funções fisiológicas normais, apesar dos processos biológicos nos tecidos normais do doente serem adequadamente controlados e integrados à fisiologia diária. Os processos biológicos que determinam a eficácia dos fármacos anticancerígenos, incluindo absorção, distribuição, metabolismo e eliminação (ADME), seguem todos o ritmo circadiano. Portanto, aplicar o tratamento anticancerígeno em horários selecionados durante o dia com base na variação circadiana da fisiologia interna do doente pode aumentar a eficácia dos tratamentos anticancerígenos.<sup>15</sup>

A cronoterapia, também denominada medicina circadiana ou cronomedicina, tem sido definida como uma estratégia que utiliza os ritmos e ciclos naturais dos processos fisiológicos e bioquímicos para tratar um distúrbio. Este tipo de terapia em horários ótimos<sup>12</sup>, com o objetivo de reduzir os efeitos adversos e melhorar a eficácia durante o tratamento do cancro,

foi aplicado na clínica antes mesmo de mecanismos mais detalhados do relógio circadiano serem conhecidos. Posteriormente, uma vez que as funções biológicas dos ritmos circadianos foram reveladas, mostrando que a farmacocinética, a farmacodinâmica e a segurança dos medicamentos dependem altamente do ritmo de 24 horas, a utilização da cronoterapia foi suportada. Esta estratégia foi aplicada com sucesso, por exemplo, à sinvastatina usada para tratar a hipercolesterolemia. Esta estatina de curta duração deve ser tomada à noite, de modo a existir uma maior concentração de fármaco durante o pico da síntese de colesterol endógeno.<sup>25</sup>

De facto, a administração no tempo certo durante o ciclo pode não apenas contribuir para efeitos benéficos, mas também evitar efeitos adversos, especialmente para agentes anticancerígenos cujo uso pode ser limitado devido aos seus efeitos colaterais em tecidos saudáveis. No que diz respeito às abordagens cronoterapêuticas do cancro, a otimização dos esquemas tornou-se mais complexa, uma vez que os fármacos antineoplásicas causam efeitos citotóxicos tanto em tecidos saudáveis quanto em tecidos afetados.<sup>2</sup>

É importante ressaltar que a cronoterapia melhora potencialmente a taxa de sobrevivência e a qualidade de vida de pacientes com cancro, minimizando a citotoxicidade causada por agentes anticancerígenos.<sup>13</sup>

#### As abordagens cronoterapêuticas foram categorizadas em três tipos:

I) Treinar o relógio circadiano – intervenções para melhorar ou manter o ritmo circadiano robusto nos ciclos claro/escuro, no sono/vigília ou na alimentação/jejum.

A melatonina é uma hormona anticancerígena eficaz e detém uma importante função circadiana. O foco na melatonina como um fator que inibe o crescimento de células cancerígenas tem sido apoiado por estudos que mostram que a melatonina pode reduzir a proliferação de células cancerígenas, modular a defesa antioxidante, regular o metabolismo celular e bloquear a invasão/metástase celular. Por exemplo, a melatonina pode reduzir a proliferação em numerosas linhas celulares de cancro, como o cancro da mama, cancro da próstata, carcinoma endometrial, carcinoma do ovário e melanoma.<sup>9</sup> A baixa secreção de melatonina está associada a uma maior incidência de desenvolvimento de cancro em pacientes com exposição à luz durante a noite. Além disso, a melatonina tem a capacidade de atuar especificamente em células cancerígenas, não em células normais. A melatonina também reduz a toxicidade induzida pela quimioterapia em células normais através do restabelecimento do ritmo circadiano claro/escuro. Foi demonstrada a capacidade da melatonina administrada por via oral para definir o relógio circadiano. A melatonina produz uma variedade de resultados

favoráveis em pacientes oncológicos. Foi relatado que a melatonina reduz a toxicidade de vários agentes, incluindo a cisplatina, etoposido, antraciclina e 5-fluorouracil (5-FU). Evidências clínicas sugerem de forma semelhante uma melhora na taxa de sobrevivência a 5 anos de pacientes com cancro do pulmão de não pequenas células metastático tratados com melatonina em combinação com cisplatina e etoposido.<sup>29</sup> Estudos mostraram que a combinação de melatonina e tamoxifeno pode ter benefícios sinérgicos modestos e que a melatonina pode aumentar os efeitos de alguns medicamentos usados para tratar pacientes com cancro da mama e próstata.<sup>11</sup> Encontrou-se uma redução estatisticamente significativa nos eventos adversos relacionados ao tratamento, como mielossupressão, neurotoxicidade, nefrotoxicidade, cardiotoxicidade e astenia.<sup>24</sup> Esses resultados são promissores para estabelecer a terapia com melatonina como uma das estratégias cronobióticas mais seguras no tratamento do cancro.<sup>5</sup>

Em estudos recentes, as intervenções nutricionais têm sido cada vez mais pensadas para melhorar os ritmos circadianos e a saúde. Evidências pré-clínicas crescentes indicam que a restrição calórica pode ter efeitos anticancerígenos, reduzindo a progressão do tumor, aumentando a morte de células cancerígenas e elevando a eficácia e tolerabilidade da quimioterapia e radioterapia. Foi relatado que o jejum intermitente, uma terapia baseada em dieta que alterna entre jejum e alimentação livre por um período de tempo, inibe o crescimento do tumor e melhora as respostas imunes antitumorais em estudos pré-clínicos e clínicos. Além disso, o jejum intermitente pode aumentar a sensibilidade do cancro à quimioterapia e à radioterapia e reduzir os efeitos adversos dos tratamentos anticancerígenos tradicionais. Juntamente com a dieta, o exercício está a ganhar atenção emergente como uma potencial estratégia de intervenção cronoterapêutica para a prevenção e tratamento de múltiplos processos patológicos.<sup>5</sup>

2) Atingir farmacologicamente o relógio circadiano – usar agentes que atingem diretamente o relógio circadiano.

Atualmente, estão disponíveis dois tipos de fármacos do relógio – fármacos que podem modular diretamente a atividade dos genes do núcleo circadiano e fármacos que visam reguladores dos genes do relógio do núcleo circadiano. Os fármacos da segunda categoria têm como alvo as proteínas que fosforilam ou degradam os componentes do relógio, entre outras proteínas-alvo e, portanto, não são específicos para os componentes do relógio. Os fármacos do relógio foram desenvolvidos como ferramentas para atingir diretamente os componentes do relógio circadiano, incluindo RORs, REV-ERBs e CRYs.<sup>1</sup>

A observação de que o cancro da próstata metastático resistente à castração expressa altos níveis do ROR $\gamma$  e que o ROR $\gamma$  ativa a expressão do RA, levou os investigadores a testar se a inibição de ROR $\gamma$  pode afetar o cancro da próstata. É importante ressaltar que a administração *in vivo* de antagonistas de ROR $\gamma$  (como o XY 018 e SR 2211) bloqueia o crescimento de tumores que expressam RAs e restaura a sensibilidade à enzalutamida (um inibidor de sinalização androgénica atualmente usado para tratamento de cancro de próstata) em tumores resistentes. Estudos relatam que a inibição farmacológica do ROR $\gamma$  *in vitro* e *in vivo* exerce uma potente atividade antitumoral em vários tipos de cancro, como o cancro da próstata resistente à castração, adenocarcinoma pancreático e cancro da mama triplo negativo.<sup>1</sup> Em contraste, os agonistas do ROR $\gamma$  podem modular múltiplas vias de sinalização para aumentar a imunidade antitumoral contra leucemia, cancro da mama e do cólon, aumentando as funções dos linfócitos T citotóxicos e atenuando os mecanismos imunossupressores. Por exemplo, o LYC-54143 e o LYC-53772 são dois potentes agonistas do ROR $\gamma$  que exibem atividade citotóxica ao promover a produção de citocinas/quimiocinas.<sup>13</sup> A nobiletina, um flavonoide encontrado em frutas cítricas, foi caracterizada como um agonista de ROR $\alpha$  e ROR $\gamma$  que pode induzir apoptose e paragem do ciclo celular, suprimir a migração e invasão, inibir muitos *drivers* oncogénicos, aumentar os supressores do tumor e aumentar a sensibilidade à quimioterapia em vários tipos de células cancerígenas. Esses resultados sugerem que as isoformas ROR podem ser um alvo promissor para o tratamento de cancros.<sup>5</sup>

Evidências crescentes sugerem que o direcionamento farmacológico do REV-ERBs pode ter potencial terapêutico em uma ampla gama de distúrbios neuropsiquiátricos, metabólicos e imunológicos, bem como no cancro. Estudos *in vitro* e *in vivo* revelaram que os agonistas do REV-ERB SR9009 e SR9011 exibem propriedades anticancerígenas seletivas em linhas celulares de cancro de cérebro, leucemia, mama, cólon e melanoma, inibindo a autofagia e a lipogénese de novo, importantes para a sobrevivência das células cancerígenas. O efeito antitumoral do agonista REV-ERB SR9009 foi ainda confirmado por estudos subsequentes mostrando que o tratamento com este fármaco reduziu significativamente a proliferação celular e a viabilidade em células de glioma, bem como em células quimiorresistentes e quimiossensíveis de carcinoma do pulmão de pequenas células, prejudicando a autofagia.<sup>5</sup>

Em um estudo recente, o KL001, um estabilizador CRY, exibiu atividade antitumoral, como comprometimento da autorrenovação, migração celular e proliferação, bem como aumento da apoptose, em células estaminais de glioblastoma derivadas de pacientes.<sup>5</sup>

3) Administrar os fármacos na hora certa – otimizar o tempo dos medicamentos para melhorar a eficácia e reduzir os efeitos adversos.

Está bem documentado que os relógios circadianos regulam a ADME de fármacos. Além disso, evidências experimentais e clínicas crescentes sugerem que o tempo circadiano pode ser um parâmetro importante no tratamento de doenças, incluindo na quimioterapia. Vários estudos clínicos mostraram que a eficácia de alguns medicamentos antineoplásicos pode variar em mais de 50%, dependendo de quando são administrados. Devido aos efeitos citotóxicos dos fármacos anticancerígenos nos tecidos normais, bem como nas células malignas, um dos principais objetivos dos estudos terapêuticos é reduzir a toxicidade que resulta em dano tecidual do doente e disfunção imunológica. Estudos em pacientes humanos com cancro do ovário avançado mostraram que a administração de doxorubicina pela manhã (às 6h) e cisplatina à noite (às 18h) causou menos complicações e menos toxicidade renal quando comparado com a administração de doxorubicina à noite e cisplatina pela manhã.<sup>5</sup>

Os medicamentos antineoplásicos devem ser tóxicos o suficiente para matar as células tumorais, mas ao mesmo tempo devem causar o mínimo de dano possível às células e tecidos saudáveis. Este facto exige o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para a distribuição de fármacos anticancerígenos. A aplicação de uma estratégia cronoterapêutica para o tratamento do cancro estimulou desenvolvimentos em bioengenharia, como bombas multicanais programáveis no tempo para administração de medicamentos cronomodulados.<sup>13</sup>

Em resumo, a cronoterapia tem vindo a mostrar benefícios não apenas para melhorar a eficácia terapêutica, mas também para minimizar os efeitos adversos do tratamento do cancro. Fica cada vez mais evidente que o efeito terapêutico dos agentes anticancerígenos pode ser modificado dependendo do tempo de administração do fármaco.<sup>2</sup> No entanto, a aplicação real da cronoterapia no tratamento do cancro ainda é muito precoce, e mais investigação clínica é necessária para expandir as aplicações clínicas da cronoterapia no tratamento do cancro. Embora qualquer cancro possa ser considerado para cronoterapia, relativamente poucos foram estudados. A medicina circadiana demonstrou afetar a sobrevivência ou morte de células tumorais em diversos tipos de cancro, incluindo cancro colorretal metastático, leucemia linfoblástica aguda, glioblastoma e alguns cancros de ovário e geniturinário.<sup>25</sup> Os tratamentos atuais de doenças ainda são baseados na administração de medicamentos, independentemente da hora do dia.<sup>2</sup> Numa altura em que a medicina personalizada é muito valorizada, este conjunto de conclusões sugere que o *timing* da quimioterapia deve ser ajustado a cada doente, dependendo da expressão cíclica dos genes do

relógio e da sensibilidade do alvo do fármaco – seguindo assim o ritmo circadiano interno do doente.<sup>12</sup>

A determinação da fase circadiana em pacientes individuais por meio da monitorização de biomarcadores circadianos relevantes pode conduzir à personalização de esquemas de administração de quimioterapia cronomodulados e melhorar os efeitos do tratamento. Isso suporta ainda mais a necessidade da contínua monitorização de ritmos circadianos e ajustes dinâmicos de tratamento.<sup>6</sup>

## **Considerações Finais**

O relógio circadiano é um sistema molecular fundamental e necessário para a regulação de processos celulares essenciais. Assume uma importância crescente no que toca ao fornecimento de mais informações mecanísticas sobre as relações entre o desenvolvimento do cancro e a disrupção do ritmo circadiano. Isto pode levar à identificação de biomarcadores e alvos terapêuticos ainda não reconhecidos para cancros específicos.

O relógio circadiano é vital para manter a homeostase fisiológica e a função normal de todos os organismos, no entanto, na sociedade moderna, quase todas as pessoas estão sujeitas a alguma perturbação circadiana. Este facto sublinha a importância do investimento no estudo do ritmo circadiano, o que permitirá oferecer uma medicina personalizada e individualizada, levando à obtenção de melhores resultados clínicos.

## Referências Bibliográficas

1. SULLI, Gabriele; LAM, Michael Tun Yin; PANDA, Satchidananda - Interplay between Circadian Clock and Cancer: New Frontiers for Cancer Treatment. **Trends in Cancer**. ISSN 24058033. 5:8 (2019) 475–494. doi: 10.1016/j.trecan.2019.07.002.
2. ALBUQUERQUE, Tânia *et al.* - Exploring the link between chronobiology and drug delivery: effects on cancer therapy. **Journal of Molecular Medicine**. ISSN 14321440. 99:10 (2021) 1349–1371. doi: 10.1007/s00109-021-02106-x.
3. RIBEIRO, Rodrigo F. N.; CAVADAS, Cláudia; SILVA, Maria Manuel C. - Small-molecule modulators of the circadian clock: Pharmacological potentials in circadian-related diseases. **Drug Discovery Today**. ISSN 18785832. 26:7 (2021) 1620–1641. doi: 10.1016/j.drudis.2021.03.015.
4. TSUCHIYA, Yoshiki; UMEMURA, Yasuhiro; YAGITA, Kazuhiro - Circadian clock and cancer: From a viewpoint of cellular differentiation. **International Journal of Urology**. ISSN 14422042. 27:6 (2020) 518–524. doi: 10.1111/iju.14231.
5. LEE, Yool - Roles of circadian clocks in cancer pathogenesis and treatment. **Experimental and Molecular Medicine**. ISSN 20926413. 53:10 (2021) 1529–1538. doi: 10.1038/s12276-021-00681-0.
6. INNOMINATO, Pasquale F. *et al.* - The circadian timing system in clinical oncology. **Annals of Medicine**. ISSN 13652060. 46:4 (2014) 191–207. doi: 10.3109/07853890.2014.916990.
7. PARIOLLAUD, Marie; LAMIA, Katja A. - Cancer in the fourth dimension: What is the impact of circadian disruption? **Cancer Discovery**. ISSN 21598290. 10:10 (2020) 1455–1464. doi: 10.1158/2159-8290.CD-20-0413.
8. SOTÁK, Matúš; SUMOVÁ, Alena; PÁCHA, Jiří - Cross-talk between the circadian clock and the cell cycle in cancer. **Annals of Medicine**. ISSN 13652060. 46:4 (2014) 221–232. doi: 10.3109/07853890.2014.892296.
9. GREENE, Michael W. - Circadian rhythms and tumor growth. **Cancer Letters**. ISSN 18727980. 318:2 (2012) 115–123. doi: 10.1016/j.canlet.2012.01.001.
10. ASTONE, Matteo; SANTORO, Massimo M. - Time to fight: targeting the circadian clock molecular machinery in cancer therapy. **Drug Discovery Today**. ISSN 18785832. 26:5 (2021) 1164–1184. doi: 10.1016/j.drudis.2021.01.023.

11. GERY, Sigal; KOEFFLER, H. Phillip - Circadian rhythms and cancer. **Cell Cycle**. ISSN 15514005. 9:6 (2010) 1097–1103. doi: 10.4161/cc.9.6.11046.
12. MASRI, Selma; KINOUCI, Kenichiro; SASSONE-CORSI, Paolo - Circadian clocks, epigenetics, and cancer. **Current Opinion in Oncology**. ISSN 1531703X. 27:1 (2015) 50–56. doi: 10.1097/CCO.000000000000153.
13. ZHOU, Li *et al.* - Circadian rhythms and cancers: the intrinsic links and therapeutic potentials. **Journal of Hematology and Oncology**. ISSN 17568722. 15:1 (2022). doi: 10.1186/s13045-022-01238-y.
14. FAN, Jinshuo *et al.* - Retinoic acid receptor-related orphan receptors: Critical roles in tumorigenesis. **Frontiers in Immunology**. ISSN 16643224. 9:MAY (2018). doi: 10.3389/fimmu.2018.01187.
15. FU, Loning; KETTNER, Nicole M. - The circadian clock in cancer development and therapy. **Em Progress in Molecular Biology and Translational Science**. [S.l.] : Elsevier B.V., 2013. ISBN 9780123969712v. 119. p. 221–282.
16. VASEY, Clayton; MCBRIDE, Jennifer; PENTA, Kayla - Circadian rhythm dysregulation and restoration: The role of melatonin. **Nutrients**. ISSN 20726643. 13:10 (2021). doi: 10.3390/nu13103480.
17. TORDJMAN, Sylvie *et al.* - Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits. **Current Neuropharmacology**. 15:2017) 434–443. doi: 10.2174/1570159X14666161228122.
18. HAUS, Erhard L.; SMOLENSKY, Michael H. - Shift work and cancer risk: Potential mechanistic roles of circadian disruption, light at night, and sleep deprivation. **Sleep Medicine Reviews**. ISSN 10870792. 17:4 (2013) 273–284. doi: 10.1016/j.smrv.2012.08.003.
19. TALIB, Wamidh H. - Melatonin and cancer hallmarks. **Molecules**. ISSN 14203049. 23:3 (2018). doi: 10.3390/molecules23030518.
20. KELLEHER, Fergal C.; RAO, Aparna; MAGUIRE, Anne - Circadian molecular clocks and cancer. **Cancer Letters**. ISSN 18727980. 342:1 (2014) 9–18. doi: 10.1016/j.canlet.2013.09.040.
21. MOSER, Maximilian *et al.* - Cancer and rhythm. **Cancer Causes and Control**. ISSN 09575243. 17:4 (2006) 483–487. doi: 10.1007/s10552-006-0012-z.

22. SAVVIDIS, Christos; KOUTSILIERIS, Michael - Circadian rhythm disruption in cancer biology. **Molecular Medicine**. ISSN 10761551. 18:9 (2012) 1249–1260. doi: 10.2119/mol med.2012.00077.
23. DAVIS, Scott; MIRICK, Dana K. - Circadian disruption, shift work and the risk of cancer: A summary of the evidence and studies in Seattle. **Cancer Causes and Control**. ISSN 09575243. 17:4 (2006) 539–545. doi: 10.1007/s10552-005-9010-9.
24. HRUSHESKY, William J. M. *et al.* - Circadian clock manipulation for cancer prevention and control and the relief of cancer symptoms. **Integrative Cancer Therapies**. ISSN 15347354. 8:4 (2009) 387–397. doi: 10.1177/1534735409352086.
25. DAMATO, Anna R.; HERZOG, Erik D. - Circadian clock synchrony and chronotherapy opportunities in cancer treatment. **Seminars in Cell and Developmental Biology**. ISSN 10963634. 126:2022) 27–36. doi: 10.1016/j.semcdb.2021.07.017.
26. BLOCK, Keith I.; HRUSHESKY, William; BLASK, David - In This issue: Circadian disruption and cancer. **Integrative Cancer Therapies**. ISSN 15347354. 8:4 (2009) 295–297. doi: 10.1177/1534735409355594.
27. HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. - Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**. ISSN 00928674. 144:5 (2011) 646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
28. KIESSLING, Silke; CERMAKIAN, Nicolas - The tumor circadian clock: A new target for cancer therapy? **Future Oncology**. ISSN 17448301. 13:29 (2017) 2607–2610. doi: 10.2217/fon-2017-0456.
29. MASRI, Selma; SASSONE-CORSI, Paolo - The emerging link between cancer, metabolism, and circadian rhythms. **Nature Medicine**. ISSN 1546170X. 24:12 (2018) 1795–1803. doi: 10.1038/s41591-018-0271-8.
30. THE NOBEL PRIZE - **Discoveries of Molecular Mechanisms Controlling the Circadian Rhythm** [Acedido a 8 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2017/advanced-information/>.