



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

João Pedro da Fonseca Santiago

Relatórios de Estágio sob orientação da Dra. Cidália Roxo e do Dr. Daniel Ribeiro e Monografia intitulada “Unravelling the Circadian Rhythm: Exploring the Relationship Between Circadian Regulation, Sleep and a healthy lifestyle” sob a orientação do Professor Doutor Saul Pereira da Costa referente 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.

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

João Pedro da Fonseca Santiago

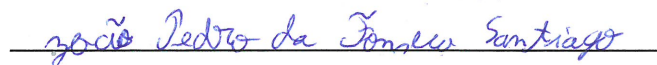
Relatórios de Estágio sob orientação da Dra. Cidália Roxo e do Dr. Daniel Ribeiro e
Monografia intitulada “Unravelling the Circadian Rhythm: Exploring the Relationship
Between Circadian Regulation, Sleep and a healthy lifestyle” sob a orientação do Professor
Doutor Saul Pereira da Costa referente à Unidade Curricular “Estágio” apresentados à
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas
públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2023

Eu, João Pedro da Fonseca Santiago, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017249508, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia Intitulada “Unravelling the Circadian Rhythm: Exploring the Relationship Between Circadian Regulation, Sleep and a healthy lifestyle” apresentados 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 todas 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, 5 de setembro 2023.



(João Pedro da Fonseca Santiago)

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor Doutor Saul Pereira da Costa, que me acompanhou e guiou de forma a ser capaz de completar esta tarefa, fornecendo-me materiais e ferramentas, e respondendo às minhas questões.

A toda a equipa da Farmácia São Sebastião que me acompanhou e ajudou a desenvolver o espírito crítico e melhorar continuamente, de forma a ser um excelente profissional de saúde.

Aos colaboradores da Pharmilab que apesar de tudo fizeram parte deste percurso.

Aos amigos que fiz durante o curso. Sem a sua ajuda não teria chegado aqui.

Aos amigos de infância com os quais partilho uma ligação extremamente forte. Obrigado pela vossa ajuda e suporte emocional nos momentos difíceis com que me deparei.

À minha irmã que pela sua sensibilidade, particularmente nos meus momentos mais vulneráveis, teve a subtileza de me ajudar e estender a mão.

E por último, aos meus pais, que foram o pilar ao qual me segurei durante este percurso e me permitiram concluir esta fase.

Um obrigado não chega.

Índice

Parte - I Relatório de Estágio Farmácia Comunitária

I. Introdução	7
2. Análise SWOT.....	8
2.1. Pontos Fortes	9
2.1.1. Formação.....	9
2.1.2. Trabalho de equipa.....	9
2.2. Pontos Fracos	10
2.2.1. Receitas manuais, diplomas e entidades.....	10
2.2.2. Aconselhamento cosmético	10
2.3. Oportunidades.....	10
2.3.1. Serviços prestados.....	10
2.3.2. Gestão de produtos	11
2.4. Ameaças	11
2.4.1. Produtos esgotados.....	11
2.4.2. Medição de parâmetros bioquímicos	12
3. Casos Práticos de aconselhamento farmacêutico.....	12
4. Conclusão.....	15
Bibliografia	16

Parte - II Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Lista de Abreviaturas.....	18
I. Introdução	19
2. As empresas	19
3. Análise SWOT.....	20
3.1. Pontos Fortes.....	21
3.1.1. Desenvolvimento de capacidades de pesquisa.....	21
3.1.2. Utilização de ferramentas informáticas	22
3.2. Pontos Fracos	22
3.2.1. Comunicação e envolvimento na equipa.....	22
3.3. Oportunidades	22
3.3.1. Contacto com áreas da atividade farmacêutica.....	22
3.3.2. Organização empresarial	23
3.4. Ameaças	23
3.4.1. Supervisão do estágio	23
3.4.2. Organização do plano de estágio	23
4. Conclusão.....	24

Parte - III " Unravelling the circadian rhythm: Exploring the Relationship Between Circadian Regulation, Sleep and a healthy lifestyle"

List of abbreviations.....	26
Abstract.....	28
Resumo.....	29
I. Introduction	30
2. The circadian rhythm	30
3. The central clock.....	32
4. SCN time keeping	32
4.1. Generation of the circadian rhythms	32
4.2. The SCN input pathways.....	33

4.3. SCN output pathways	34
5. Relationship between sleep and circadian rhythm	35
6. Melatonin	35
7. Melatonin effects on the SCN	37
8. Melatonin a circadian marker	39
8.1. Melatonin quantification methods.....	39
8.2. Circadian phase and phase response curve.....	39
8.3. Dim light melatonin onset.	40
9. Sleep-wake disorders linked with melatonin and circadian deregulation.	40
9.1. Delayed sleep-wake phase disorder	41
9.2. Advanced sleep-wake phase disorder	41
9.3. Irregular sleep-wake phase disorder	42
9.4. Non-24-hour sleep-wake disorder.....	42
9.5. Jet lag disorder.....	43
9.6. Shift work disorder.....	43
10. Circadian Rhythm sleep-wake disorders treatment strategies.....	43
11. Pharmacist role in the regulation of the circadian rhythm	45
12. Current research and Future perspectives	46
13. Conclusion.....	47
Bibliography.....	48

Parte I

Relatório de estágio em Farmácia comunitária

Farmácia São Sebastião



Estágio sob a orientação da Dra. Cidália Roxo

2 de janeiro de 2023 – 28 de abril de 2023

I. Introdução

O amplo percurso de formação do aluno que completa o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas visa proporcionar capacidades tanto académicas, como praticas para que este desenvolva as competências necessárias para desempenhar, com qualidade, o papel do farmacêutico em qualquer área que necessite ou beneficie do seu exercício.

Neste sentido o currículo do curso inclui uma vertente prática que se concretiza na realização de um estágio académico em farmácia comunitária.

O ato farmacêutico desempenhado, nos dias de hoje, em farmácia comunitária pode ser visto como um produto refinado e adaptado ao paradigma sociocultural atual, tendo sido desenvolvido ao longo da história da humanidade onde registos indicam praticas mágico-religiosas e a preparação de “mezinhas” com produtos naturais como ato farmacêutico mais primordial, sendo este seguido pelas inovações de Galeno considerado o “Pai da farmácia” que modelaram todo o desenvolvimento do ato farmacêutico até ao período contemporâneo. A farmácia comunitária é um estabelecimento incorporado no sistema nacional de saúde, em que são conduzidas varias ações que visam a promoção da saúde pública, em que o produto mais valioso disponível é a informação que o farmacêutico possui e é capaz de transmitir ao utente. Esta transação de conhecimento diferencia o farmacêutico de um mero vendedor, pois o farmacêutico tem a responsabilidade de dispensar medicamentos ao invés de os vender.

O ato da dispensa de medicação é muito mais profundo do que qualquer venda, é aqui que o farmacêutico deve analisar as necessidades do utente e garantir que a medicação tomada segue os princípios da farmacoterapia, ou seja o medicamento certo, à hora certa, na dose certa, administrado pela via e de forma correta. Tornando assim a dispensa dos medicamentos num passo valioso de farmacovigilância.

É também na farmácia que são prestados serviços tais como a preparação de medicamentos manipulados, a administração de medicamentos, medições de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, preparação individualizada de medicação, consultas de dietética e serviço de pedicure, entre outros.

Este relatório tem como objetivo documentar o período de tempo em que realizei funções como estagiário do mestrado integrado de Ciências Farmacêuticas na Farmácia São Sebastião sob a orientação da Dra. Cidália Roxo. Para este efeito será apresentada uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) acompanhada de 5 casos práticos onde

exerci a minha responsabilidade de prestar aconselhamento farmacêutico a utentes da farmácia.

2. Análise SWOT

Neste capítulo apresento a análise SWOT na Tabela I referente ao estágio realizado na Farmácia São Sebastião, em que exponho os Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças, que se apresentaram à concretização da atividade em questão.

Tabela I - Análise SWOT referente ao estágio curricular em farmácia comunitária

SWOT Analysis – Análise SWOT

Strengths – Pontos Fortes

- Formação
- Trabalho de equipa

Weaknesses – Pontos Fracos

- Receitas manuais, diplomas e entidades
- Aconselhamento cosmético

Oportunities – Oportunidades

- Serviços prestados
- Gestão de produtos

Threats – Ameaças

- Produtos esgotados
- Medição de parâmetros bioquímicos

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Formação

Através da realização de uma análise retrospectiva referente ao estágio que realizei em farmácia comunitária, acredito que a formação que recebi quer a nível académico, quer a nível profissional foi, e continuará a ser uma influência extremamente positiva para o percurso que irei trilhar futuramente. Assim que iniciei as minhas atividades houve um grande esforço por parte de todos os membros integrantes da equipa para que eu conhecesse todas as fontes de conhecimento existentes na farmácia, entre livros e fluxogramas indicados para desenvolver a capacidade de aconselhamento, mas também diretivas e mapas informativos com o objetivo de dar a conhecer as entidades que trabalham com as farmácias, informação relativa à faturação, entre outros.

Toda esta formação foi direcionada para ser feita autonomamente, no sentido em que me foram dadas todas as ferramentas e apenas necessitava de as usar de forma a potenciar a minha capacidade de aprendizagem autónoma.

A formação que recebi a nível teórico passou, para além do conhecimento farmacológico e de aconselhamento farmacêutico, por uma introdução aos processos de gestão e organização da atividade de uma farmácia, sendo possível realçar a aprendizagem que fiz em relação aos procedimentos realizados referentes à gestão e preparação de manipulados.

2.1.2. Trabalho de equipa

Com a minha introdução na equipa da farmácia pude observar como as tarefas eram organizadas e distribuídas, cada elemento possui responsabilidades específicas, porém também possui a capacidade de realizar todas as tarefas necessárias para o correto funcionamento da farmácia, criando assim uma equipa capaz de se equilibrar face a imprevistos. Durante o estágio fui capaz de compreender as funções que como estagiário me competiam desempenhar, de forma a otimizar o tempo útil de todos os membros da equipa. Tendo tomado consciência do tipo de funções mais adequadas para o conjunto das minhas habilidades e, ao mesmo tempo, desenvolver capacidades outrora mais negligenciadas da minha parte. O progresso anteriormente referido passou também pela capacidade da equipa para camuflar os meus pontos fracos, e permitir-me observar e posteriormente explicar-me a maneira correta de reagir face a diferentes situações.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Receitas manuais, diplomas e entidades

No decorrer do dia de trabalho de um farmacêutico por vezes os utentes apresentam, para além das receitas eletrónicas sejam estas materializadas ou desmaterializadas, receitas manuais. Quando iniciei os atendimentos ao público estas receitas eram extremamente difíceis de processar, pois até então não tinha contactado com nenhum exemplo de como garantir que eram válidas, e para além disso o sistema de comparticipações especiais era todo um universo desconhecido. A existência de diplomas, como estes eram apresentados numa receita manual, todas as entidades que possuem regimes de comparticipação e como identificá-los nas receitas e ativá-los no sistema foi algo desafiante, e necessitou de um grande trabalho de estudo da minha parte durante o estágio de forma a ganhar a capacidade de atuar autonomamente face a estas situações.

2.2.2. Aconselhamento cosmético

Face à grande variedade de produtos, gamas e marcas cosméticas, o aconselhamento de cosméticos foi durante parte do meu estágio, uma atividade que não fui capaz de realizar autonomamente. O conhecimento prévio por mim adquirido durante as unidades curriculares representativas desta área foi extremamente focado na vertente tecnológica dos cosméticos, negligenciando assim toda a informação referente ao aconselhamento destes produtos.

Tendo em conta que o produto cosmético pode ser comercializado fora da farmácia, o fator que diferencia a experiência de adquirir estes produtos na farmácia é o aconselhamento associado, sendo necessário criar um ambiente acolhedor e confortável para o utente e que satisfaça as suas necessidades. Com o intuito de produzir este ambiente de aconselhamento, tentei sempre passar estes casos aos colegas da equipa da farmácia cujo conhecimento desta área supera o meu, colocando-me sempre numa posição de observação e análise do aconselhamento realizado. Porém, devido à imensidão de produtos disponíveis não fui capaz de me sentir confiante o suficiente para realizar atendimentos, referentes a esta área do conhecimento, de forma independente.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Serviços prestados

A farmácia São Sebastião disponibiliza uma grande variedade de serviços aos utentes que a visitem. Durante o estágio foi-me dada a oportunidade de prestar alguns desses serviços tais como, a medição de parâmetros bioquímicos e fisiológicos nomeadamente, tensão arterial,

ozempic[®], o trulicity[®] e a victoza[®], para além destes um caso muito frequente era também o ovestin[®] uma pomada vaginal muito útil no combate de sintomas relativos à menopausa. Como futuro profissional de saúde ser obrigado a negar os melhores cuidados de saúde existentes a qualquer utente foi sempre algo que me deixou a consciência pesada.

2.4.2 Medição de parâmetros bioquímicos

Como já referido nas oportunidades a realização medições de parâmetros bioquímicos, foi uma oportunidade que me foi disponibilizada durante o estágio. Apesar de tudo, este assunto também pode ser considerado uma ameaça devido ao facto de durante o curso existir pouca ou nenhuma prática relativa ao manuseamento dos equipamentos utilizados e aos protocolos a seguir de forma a realizar estes processos de forma adequada. Isto resultou em que durante o estágio tivesse falhado algumas vezes enquanto fui medir estes parâmetros sozinho e necessitei de pedir ajuda à equipa da farmácia, mais do que uma vez, de forma a compreender de forma correta o protocolo a seguir face à necessidade de realizar estas medições de forma o mais rigorosa possível.

3. Casos Práticos de aconselhamento farmacêutico

3.1. Caso Prático I

Utente de idade próxima a 25 anos dirige-se à farmácia coberto de queimaduras solares nas zonas visíveis, rosto e braços, e pede um produto para aliviar o desconforto que sente devido às suas lesões. Aconselhei então o *spray* aquaphor[®] Eucerim 250 mL, constituído por emolientes como a lanolina, parafina e glicerina que irá acalmar a pele e eliminar o desconforto, enquanto o *panthenol* existente na formulação atua como agente reparador da pele, e face às características inerentes à formulação em aerossol o utente será capaz de espalhar o produto pelas áreas afetadas mais facilmente do que uma forma tradicional como um creme ou uma pomada. Ainda durante o atendimento o utente mostra uma queimadura mais grave numa área menor, provocada por um acidente de trabalho, apenas para essa zona aconselhei o uso do creme pandermil[®] 10mg/g, constituído por hidrocortisona, este glucocorticoide é considerado como um bom tratamento para o alívio de queimaduras, através dos seus efeitos anti-inflamatórios e vasoconstritores. Este produto é muito eficaz a curto prazo, porém, não deve ser utilizado de forma prolongada devido às suas propriedades imunossupressoras, pelo que o uso deste creme durante três dias. Por fim, complementei o atendimento através do aconselhamento de medidas não farmacológicas como o uso de protetor solar, o uso de roupa de algodão que cubra as zonas afetadas de forma a permitir que a pele respire e ao mesmo tempo, protegendo-a de agressões externas e a ainda aconselhei a ingestão de água.^{2; 3}

3.2. Caso Prático 2

Um utente com aproximadamente 20 anos apresentou-se na farmácia com queixas de prurido interdigital e descamação cutâneas nos pés, sintomas comuns de *tinea pedis* ou “pé de atleta”, patologia esta caracterizada pela infeção dermatológica que afeta os espaços interdigitais e a superfície plantar dos pés, causada principalmente pelo *trichophyton rubrum* responsável por 70% dos casos registados. A transmissão da *tinea pedis* é feita pelo contato dos pés nus com objetos, ou solo contaminado, ou através do contato direto com a pele infetada de outros indivíduos, esta transmissão é potenciada por fatores como o calor e a humidade, condições estas que favorecem a sobrevivência dos esporos do fungo. Para o tratamento desta infeção é indicado o uso de antifúngicos tópicos sendo os mais comuns os derivados do imidazol.

Tendo em conta as informações acima referidas recomendei ao utente o uso do creme pevaryl[®], composto por nitrato de econazol na concentração de 10mg/g, seguido da recomendação da aplicação do creme 2 vezes por dia, uma aplicação de manhã e á noite, devendo prolongar o tratamento 2 a 3 dias para além da duração dos sintomas. Para além disso aconselhei ainda o uso de um pó antifúngico como o acido bórico em pó, para ser aplicado no calçado de forma a eliminar a qualquer fungo capaz de provocar a reinfeção presente no calçado.^{4; 5}

3.3. Caso Prático 3

Utente idosa apresenta-se na farmácia com queixas relativas a feridas nas gengivas, com a possibilidade de serem provocadas pelo uso de uma prótese dentária que não assenta de forma correta na gengiva.

De forma a tratar a queixa inicial, a ferida nas gengivas aconselhei o uso do gel bucal elugel[®], três vezes ao dia, composto por digluconato de cloro-hexidina (0,2%) este gel atua como um agente de limpeza e purificação das gengivas, a sua aplicação deve ser feita com o dedo ou uma escova de dentes ultra suave. De seguida aconselhei o corega[®] creme fixativo para próteses dentárias, com o objetivo de ajudar a manter a prótese no lugar correto e evitar o aparecimento de lesões futuras. Finalizei o atendimento com a informação de que com o passar do tempo a estrutura óssea do maxilar vai-se alterando pelo que é aconselhável a visita regular ao dentista para que a sua prótese seja ajustada ou mesmo substituída, e que cuidados como a limpeza diária da prótese através de produtos como pastilhas de limpeza adequadas para próteses dentífricas podem ajudar a manter a higiene das gengivas e mitigar o aparecimento de lesões futuramente.⁶

3.4. Caso Prático 4

Utente com aproximadamente 40 anos dirige-se á farmácia e pede um medicamento para a gripe, apresenta febre, mialgias, congestão nasal e tosse produtiva, e a única medicação crónica que toma é uma estatina para o colesterol. Perante estes sintomas aconselhei o antigripine trieffect[®], de 8 em 8 horas, composto pela associação de 500 mg de paracetamol com 5mg de fenilefrina. O paracetamol vai atuar como antipirético e analgésico, enquanto a fenilefrina vai atuar como descongestionante nasal através da sua ação simpaticomimetica a nível dos recetores adrenérgicos. Com o objetivo de ajudar a tosse produtiva aconselhei a toma do flumucil[®], composto por 600mg de acetilcisteína, um mucolítico que atua através da despolimerização de complexos multi proteicos e ácidos nucleicos, facilitando desta forma a eliminação do muco produzido, levando a que a tosse existente cesse. Por fim aconselhei a ingestão de água, pois a febre pode levar a estados de desidratação e ao mesmo tempo uma boa hidratação promove a eliminação das secreções anteriormente mencionadas.^{7; 8}

3.5. Caso Prático 5

Utente de idade próxima aos 20 anos dirige-se à farmácia e pede o antidiarreico imodium rapid[®], pois desde o dia anterior sofre de diarreia com dejeções múltiplas e necessita de algo para resolver esse problema. Devido a este pedido passei a explicar que a diarreia é um mecanismo de defesa do organismo e que quando se manifesta o ideal será descobrir e tratar a causa da diarreia invés de tomar um antidiarreico pois este pode levar a posteriores infeções a nível intestinal ou à criação de um bloqueio intestinal. Sendo assim apresentei ao utente a opção de utilizar um probiótico como o lactoflora[®] soro de reidratação que para além dos probióticos possui também pré-bióticos e sais minerais que irão ajudar a repor a flora intestinal e ao mesmo tempo combater a desidratação que pode ocorrer devido às frequentes dejeções. Para finalizar aconselhei que o utente realizasse uma dieta cuidada à base de cozidos e grelhados, evitar fritos, e ingerir bastante água. No final do atendimento o utente levou na mesma o imodium rapid[®], porém, ao mesmo tempo ainda aceitou a sugestão e levou o lactoflora[®] soro de reidratação.^{9; 10}

4. Conclusão

O estágio que tive a oportunidade de realizar na Farmácia São Sebastião representa uma etapa chave na conclusão do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Foi durante este período que foram possibilitadas oportunidades de me pôr à prova e desenvolver capacidades científicas e sociais que impactaram a minha capacidade de desenvolver o ato farmacêutico.

Com a progressão do estágio fui cada vez mais desenvolvendo um certo grau de autonomia dentro das funções que me competiam como estagiário. Foi também durante este estágio que me consciencializei da importância do ato farmacêutico e do seu impacto na sociedade.

Realizando um balanço final do estágio, diria que foi uma experiência extremamente positiva em todos os aspetos da minha formação, e ao encerrar este capítulo ficará guardada junto das boas memórias.

Bibliografia

1. CABRAL, Célia; PITA, João Rui - **Sinopse da História da Farmácia. Cronologia.** 2015. ed. ISBN 978-972-8627-62-1.
2. **Pandermil creme: resumo das características do medicamento** - [Consult. 29 ago. 2023]. Disponível em <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
3. **Eucerin Aquaphor** [Consult. 29 ago. 2023]. Disponível em https://www.eucerin.pt/produtos/aquaphor?gclid=CjwKCAjwrranBhAEEiwAzbhNtTCVAAyC6ikA_IBDKiASTTAVe0xyEzQQpKyklkEbGKETOYGqJu9QuBoCP8cQAvD_BwE
4. **Pevaryl creme: resumo das características do medicamento** - [Consult. 29 ago. 2023]. Disponível em <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
5. **Pé de atleta** - [S.l.] : NLM (Medline), [s.d.] [Consult. 29 ago. 2023]. Disponível em https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/e_publicacao_pe_de_atletafim_rev_9_1082289253621cb9e43cabf.pdf
6. **Gel Bucal Purificante Elugel** - [Consult. 29 ago. 2023]. Disponível em <https://www.pierrefabre-oralcare.com/pt-pt/p/gel-bucal-purificante-elugel-3577056021732-2a18b894>
7. **antigrippine comprimidos revestido por película: Resumo das características do medicamento** [Consult. 29 ago. 2023]. Disponível em <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
8. **Fluimucil comprimidos efervescentes: resumo das características do medicamento** [Consult. 29 ago. 2023]. Disponível em <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
9. **Resumo das características do medicamento: Imodium rapid 2mg** - [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
10. **Lactaflora Soro de reidratação** - [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em <https://www.lactoflora.pt/sobre/item/23-lactoflora%C2%AE-soro-de-reidrata%C3%A7%C3%A3o.html>

Parte II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Pharmilab



Estágio sob a orientação do Dr. Daniel Ribeiro

2 de abril de 2023 – 24 de julho de 2023

Lista de Abreviaturas

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

I. Introdução

O curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) desenhado pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, concede ao aluno, que o frequente, uma grande quantidade e qualidade de bases de conhecimento. Devido a estas bases previamente adquiridas, o aluno após ser formado é capaz de atuar em várias áreas do mercado de trabalho estando dotado de capacidades cobiçadas por entidades patronais que necessitam de pessoal qualificado a nível do medicamento, do produto cosmético, da saúde e de análises.

Com o intuito de atuar a nível da indústria procurei um estágio onde pudesse visualizar e experienciar o mundo regulamentar ou de gestão de mercados, isso levou a candidatar-me às vagas proporcionadas pela Pharmilab, porque tendo pesquisado anteriormente sobre a empresa, descobri que era uma empresa que trabalhava a nível do mercado do produto cosmético e dos assuntos regulamentares dos mesmos.

No decorrer do meu estágio fui também apresentado a uma empresa paralela à Pharmilab, a Cosmetikke empresa esta que pertence aos mesmos donos da Pharmilab criada com o intuito de criar uma plataforma de e-commerce onde estão compilados os produtos de uma grande seleção de marcas cosméticas. Sendo que o principal objetivo da Cosmetikke é criar uma plataforma que para as marcas oferece serviços logísticos, exposição e oportunidades de marketing enquanto que para o consumidor oferece uma enorme base em que este pode procurar e adquirir o produto que pretende de forma segura e rápida.

Neste relatório irei descrever as minhas atividades em ambas as empresas sob a orientação do Dr. Daniel Ribeiro. Assim como realizar uma análise crítica do estágio curricular desenvolvido, na forma de uma análise SWOT (*Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats*). Serão expostos os Pontos Fortes, Pontos Fracos, as Oportunidades que me foram apresentadas e as Ameaças ao bom decorrer do estágio.

2. As empresas

A Pharmilab e a Cosmetikke são duas empresas que trabalham a partir do mesmo tipo de produto, o produto cosmético, apesar disso possuem missões diferentes, porém, as duas completam-se.

A Pharmilab já possui mais de 10 anos, e tem escritórios em Coimbra, Lisboa e Londres. A sede está localizada em Coimbra mais especificamente no instituto Pedro Nunes. É na Pharmilab que podemos encontrar equipas de inteligência de mercado, assuntos regulamentares, testes laboratoriais, consultadoria de mercado e operação logística. Sendo

que é a partir do escritório de Coimbra que operam as equipas de assuntos regulamentares, testes laboratoriais e os principais membros da direção da empresa.

A Cosmetikke à semelhança da Pharmilab também opera a partir de Coimbra, estando ambas localizadas no mesmo espaço físico. Esta é uma empresa mais jovem, e tem como objetivo fornecer canais de venda para produtos cosméticos. O domínio da Cosmetikke aponta para inicialmente atacar o mercado europeu e no futuro expandir as suas operações para outras áreas do globo.

Ambas as empresas se encontram em momentos críticos de expansão. Relativamente à Pharmilab, esta iniciou recentemente o processo de construção de uma fábrica a partir da qual pretende expandir a sua capacidade de realização de testes laboratoriais, e iniciar a produção de produtos cosméticos. Enquanto isto a Cosmetikke está a trabalhar ativamente com o intuito de lançar a sua plataforma informática para a aquisição de produtos cosméticos.



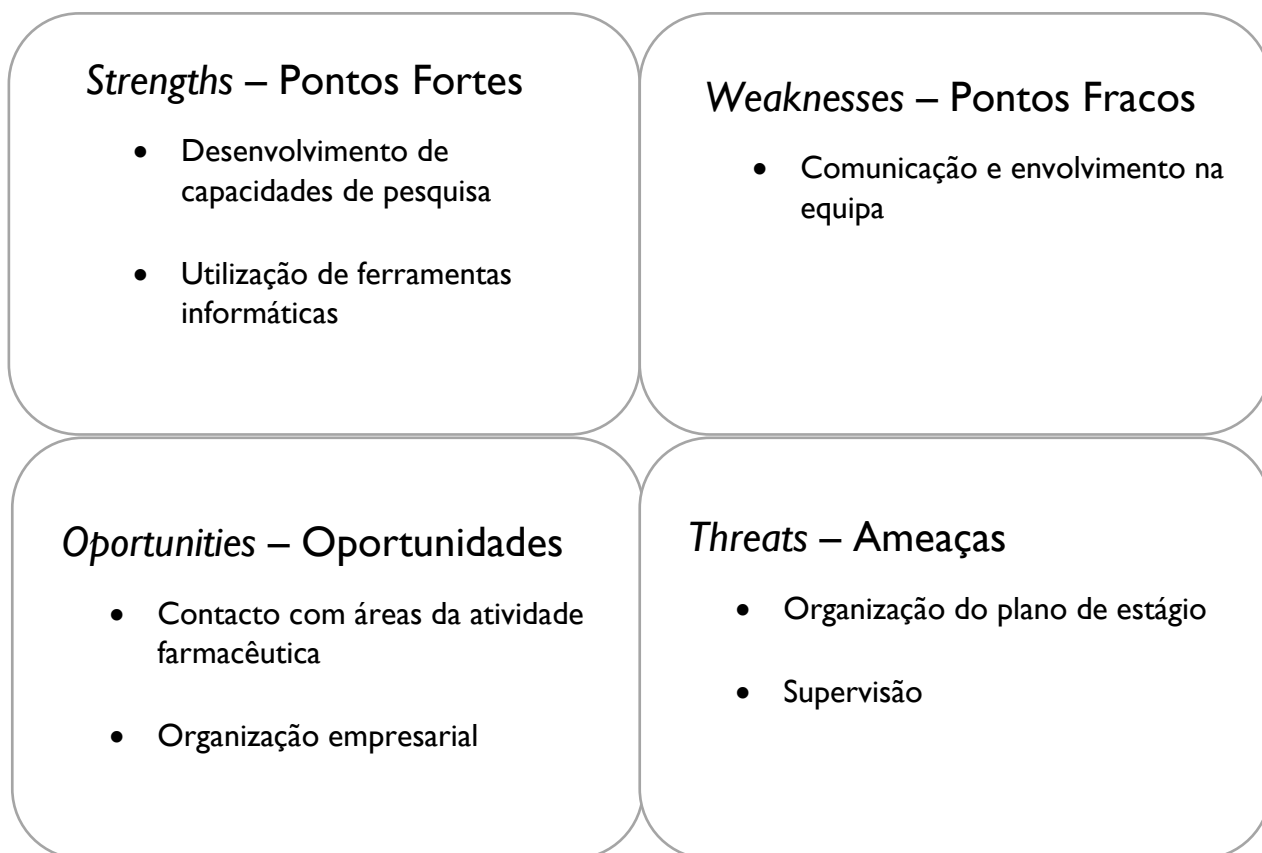
Figura 1: Escritório da Pharmilab em Coimbra

3. Análise SWOT

Neste capítulo apresento a análise SWOT (Tabela I) que executei referentemente ao estágio realizado na Pharmilab, aqui apresento os pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças que se apresentaram à concretização da atividade em questão.

Tabela I- Análise SWOT referente ao estágio curricular na Pharmilab

SWOT Analysis – Análise SWOT



3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Desenvolvimento de capacidades de pesquisa

A maioria das tarefas que me foram atribuídas durante o período em que exerci funções na Pharmilab consistiram em trabalhos de pesquisa. Estes raramente se enquadraram dentro da mesma área, sendo que acabei por realizar um pequeno estudo de mercado relativo ao mercado do produto de beleza enquadrado no e-commerce, realizei também pesquisas sobre o enquadramento regulamentar do produto cosmético na China e em Marrocos, pesquisei sobre as condições necessárias a garantir para que o *EU Ecolabel* pudesse ser atribuído a um produto cosmético, e para além disso ainda realizei uma pesquisa referente a especificações de equipamentos que a empresa pretendia adquirir de forma a melhorar as suas capacidades laboratoriais.

Tendo em conta que a maioria das minhas funções passou por estes trabalhos de pesquisa acabei por desenvolver assim a minha habilidade de pesquisa de informação e ao mesmo tempo potenciar também a minha capacidade para filtrar essa mesma informação pesquisada.

3.1.2. Utilização de ferramentas informáticas

Tendo em conta o carácter informático das tarefas que me foram entregues acabei por ter de contactar de um modo mais extensivo com vários tipos de ferramentas informáticas. Dentro destas posso realçar o Office® da Microsoft® que após uma formação feita na empresa comecei a utilizar o One Note® de forma a organizar e partilhar as minhas tarefas com membros da equipa. Também tive bastante contacto com as ferramentas de trabalho *online* da Google como o Google Docs®, Google Sheets®, e o Google Slides®, pois quando realizei tarefas relativas à Cosmetikke eram estas as ferramentas que necessitava de utilizar. Para além disso foi-me dado acesso temporário a uma base de dados relativa à vertente regulamentar o Chemlinked®, plataforma esta que necessitei de navegar para concluir algumas tarefas.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Comunicação e envolvimento na equipa

Alguns dias após ter iniciado o estágio na Pharmilab reparei que as funções que eu estava a realizar eram singulares no sentido em que ninguém na equipa desempenhava nada parecido ao que eu estava a fazer. Este facto fez com que existisse o mínimo de comunicação entre a equipa e a minha pessoa, por um lado porque eles não sabiam o que eu estava a fazer e foi este o meu primeiro contacto com uma equipa de um escritório. Devido a este facto acabei por me sentir um pouco à parte da equipa ainda mais quando me moveram de secretária e deixei de ter contacto com a minha colega de estágio.

A maior interação que possuía com a equipa era durante o almoço, sendo que se não fosse essa interação havia dias em que desde que entrava no escritório até que saía ninguém comunicava comigo.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Contacto com áreas da atividade farmacêutica

Apesar das tarefas que me foram atribuídas serem maioritariamente trabalhos de pesquisa, pude de qualquer maneira contactar um pouco com diferentes áreas do trabalho do farmacêutico em indústria.

Comecei por experienciar um pouco a vertente inteligência de mercado através das minhas primeiras tarefas ao serviço da Cosmetikke, como anteriormente referido com a análise de mercado que realizei, contribuí também para o desenvolvimento da base de dados da Cosmetikke e também me familiarizei com algumas marcas de produtos cosméticos e empresas participantes em diversas partes do fabrico do produto cosmético.

A nível do laboratório contribuí muito pouco, porém, como anteriormente referido realizei uma pesquisa sobre alguns equipamentos e para além disso fui útil na tradução de um relatório que era necessário passar da língua Portuguesa para a língua Inglesa.

Por fim, a nível da equipa de assuntos regulamentares, a minha contribuição foi um pouco indireta pois apenas me restringi a preparar informações úteis para a entrada de produtos em novos mercados como o Chinês e o Marroquino. Também fiz a mesma recolha relativa ao *EU Ecolabel* e à regulamentação relativa à presença de microplásticos em produtos cosméticos.

3.3.2. Organização empresarial

Durante o meu estágio pude visualizar e experienciar um pouco do dia-a-dia de um escritório e do papel do farmacêutico neste. Tendo em conta as minhas tarefas acabei por me posicionar um pouco por fora das atividades diárias que ocorriam na empresa, porém, pude observar como se comportavam as diferentes equipas e formular uma ideia de como funcionam os processos diários de funcionamento da empresa. Apesar de estar de fora consegui observar como funcionava uma equipa de consultadoria a nível de assuntos regulamentares, pude observar um pouco mais de longe a dinâmica de uma equipa laboratorial e observei também um pouco como funcionava a equipa de inteligência de mercado.

3.4. Ameaças

3.4.1. Supervisão do estágio

No período de tempo pelo qual passei pela Pharmilab algo que foi consistente foi a falta de supervisão das minhas atividades. O dia-a-dia da empresa funcionava de igual maneira quer estivesse presente ou não. Raramente me foi requisitada uma atualização de como estavam a correr as minhas atividades sendo que por vezes passaram semanas sem sequer me ser dirigida a palavra por parte de qualquer membro que me pudesse orientar.

3.4.2. Organização do plano de estágio

Durante o estágio que realizei acabei por me sentir desvalorizado e, quase invisível, pois não houve um plano de estágio onde estivesse delineado exatamente o que era suposto eu aprender e desenvolver de forma a estar pronto para atuar a nível profissional no futuro. Esta situação resultou em que relativamente às tarefas que me foram atribuídas eu fosse demasiado qualificado para as fazer, ou o inverso, em que as tarefas exigiam alguma experiência da minha parte, a qual era impossível eu ter previamente.

4. Conclusão

Com o estágio que realizei na Pharmilab foi-me possível experienciar pela primeira vez na minha carreira profissional o funcionamento de um escritório que trabalha com questões a nível da indústria.

Olhando para a minha escolha em realizar o estágio na Pharmilab por um lado arrependo-me pois logo de início sabia que eu não possuía um grande interesse pelo produto cosmético ou pelo mercado que este representa, porém, achei na altura que seria uma excelente oportunidade de experienciar o mundo regulamentar e de inteligência de mercado.

Concluindo, considero que o estágio que realizei foi positivo no sentido em que serviu para excluir certas áreas de trabalho que no futuro não quero perseguir, e ao mesmo tempo, posso afirmar que pude desenvolver algumas capacidades importantes para o futuro.

Parte III

Monografia

“Unravelling the Circadian Rhythm: Exploring the Relationship Between
Circadian Regulation, Sleep and a healthy lifestyle”

List of abbreviations

ASWPD – Advanced Sleep-Wake Phase Disorder

AVP – Arginine Vasopressin

BMAL-1 – Brain and muscle ARNT-Like 1

CAMK – Calcium-dependent Protein Kinase

CREB – cAMP Response Element-Binding Protein

CRSWDs – Circadian Rhythm Sleep-Wake Phase Disorders

CRY – cryptochrome

CT – Circadian Time

DLMO – Dim Light Melatonin Onset

DSWPD – Delayed Sleep-Wake Phase Disorder

GABA – Gamma-aminobutyric Acid

IGL – Intergeniculate Leaflet

ISWPD – Irregular Sleep-Wake Phase Disorder

MT1 – Melatonin Receptor 1

MT2 – Melatonin Receptor 2

PACAP – Pituitary Adenylate Cyclase Activating Protein

PKA – Protein Kinase A

PKC – Protein Kinase C

PRC – Phase Response Curve

REV-ERB – Reverse Erb Element

RHT – Retinohypothalamic tract

SCG – Superior Cervical Ganglion

SCN – Suprachiasmatic Nucleus

TTFL – Transcriptional-Transitional Feedback loop

VGLUT3 – Vesicular Glutamate Transporter Type 3

VIP – Vasoactive-intestinal Polypeptide

WT – Wild type

Abstract

The pursuit of a healthy lifestyle and longevity has been a focal point of research throughout history. From ancient times to the contemporary era, the relationship between health and lifestyle has been meticulously studied. Recognizing the impact of external factors on human well-being, researchers delved into understanding how these factors influence the body, particularly through the lens of circadian rhythms and sleep.

The circadian rhythm, a cycle lasting approximately 24 hours, is governed by two pathways: the central clock, located in the suprachiasmatic nucleus (SCN), and peripheral clocks distributed throughout the body. The SCN, the primary circadian pacemaker, orchestrates the synchronization of these clocks, influenced largely by light exposure, while internal factors, like hormones and synaptic projections, contribute to the complex relationship between the central and peripheral clocks.

The circadian rhythm significantly influences sleep patterns, and the bidirectional relationship between these phenomena is explored here. Disruptions in circadian rhythms, such as circadian rhythm sleep-wake disorders (CRSWDs), can have profound effects on sleep quality and overall health. In this context, the pharmacist plays a vital role as a healthcare professional is dealing with these disorders while aiming to attain a healthier lifestyle.

This monography presents an exploration of the intricate interplay between circadian rhythms and sleep, shedding light on their significance for health and well-being.

Keywords: Circadian, Rhythm, Sleep, Melatonin, Health

Resumo

A procura de um estilo de vida saudável e da longevidade tem sido um ponto fulcral da investigação ao longo da história. Desde os tempos antigos até à era contemporânea, a relação entre saúde e estilo de vida tem sido objeto de estudos meticolosos. Reconhecendo o impacto de fatores externos no bem-estar humano, os investigadores procuraram compreender a forma como esses fatores influenciam o corpo, em particular através da análise dos ritmos circadianos e do sono.

O ritmo circadiano dura aproximadamente 24 horas e é regido por duas vias principais: o núcleo supraquiasmático (SCN), e os relógios periféricos distribuídos por todo o corpo. O SCN é considerado o pacemaker primário do ritmo circadiano, cabe-lhe a função de sincronizar todo o ciclo, sendo que o principal fator que o influencia é o sinal externo provocado pela luz. A um nível de grandeza mais baixo, fatores internos como hormonas e projeções sinápticas também o influenciam, levando à regulação de todos os processos que decorrem no organismo.

O ritmo circadiano influencia significativamente os padrões de sono, e a relação bidirecional entre estes fenómenos é aqui explorada. As perturbações do ritmo circadiano do sono-vigília (CRSWD), podem ter efeitos profundos na qualidade do sono e na saúde em geral. Neste contexto os farmacêuticos desempenham um papel vital enquanto profissionais de saúde que lidam com estas perturbações, com o objetivo de alcançar um estilo de vida mais saudável.

Esta monografia explora a intrincada interação entre os ritmos circadianos e o sono, lançando luz sobre o seu significado para a saúde e o bem-estar.

Palavras-chave: Circadiano, Ritmo, Melatonina, Sono, Bem-estar.

I. Introduction

The pursuit of a healthy lifestyle and longevity has been a central focus of research since the beginning of the society. Records of medical practices date back to the ancient Egypt, and through analysis and research it has established found that medicine can be traced even further back.¹

Somewhere along the years it was discovered that, our health is affected by our lifestyle. Therefore, extensive research was conducted to comprehend how external factors affect the human body and determine whether they have a positive or negative impact on health.

During the mid-90s the first steps towards the understanding of chronobiology were taken through studies using fruit flies. These Studies led to the discovery of the circadian cycle as we know it. However, there is still a lot of information missing in order to achieve a complete understanding of the circadian cycle and its implications in health promotion.²

In the study of the circadian rhythm, it has been recognised that sleep and circadian regulation are interdependent. Consequently, numerous investigations have focused on comprehending the relationship between these factors and the effect of controlling both of them on well-being and achieving a healthy sleep routine.

On this review, the objective is to examine the circadian cycle, its functionality, and its relationship with sleep. Additionally, investigating the adverse effects of a misaligned circadian cycle on sleep quality, potential sleep disorders, and their respective treatments will be discussed.

2. The circadian rhythm

The circadian rhythm refers to the behavioural, psychological and molecular changes experienced a cycle of approximately 24 hours. Due to its periodicity this phenomenon might also be referred as the circadian clock.³ Mammals utilize two main pathways, namely the suprachiasmatic nucleus (SCN), also known as the central clock, and the peripheral clocks, to regulate this cycle.⁴

The main pathway is regulated by the SCN situated in the hypothalamus.⁴ This nucleus employs light cues to sustain satisfactory rhythmicity on biological events throughout the body. It was discovered in the early 1970s that the SCN is the primary circadian pacemaker in mammals. Researchers led by Robert Y. Moore at the University of Chicago and Irving Zucker

at the University of California conducted studies that led to this conclusion.⁵ This significant finding prompted further research, that revealed the autonomous, self-sustained circadian rhythmicity of both individual cells and tissues controlled by the SCN. Despite their autonomous functions recent studies show that the interactions of the neuronal SCN projections enhance the rhythmicity of the overall cycle. This evidence is based on studies in which an improvement in neuronal activity with regard to the rhythmicity of the signals emitted in a culture of SCN cells was recorded.⁶

The peripheral clocks, which consist of groups of genes found in virtually every tissue that exhibit a well-defined rhythmic expression. Their discovery was made almost 30 years past the identification of the SCN. Peripheral clocks are known to have crucial importance in regulating several physiological events within the body, such as blood pressure, heart rate, immune function, carbohydrate and lipid metabolism, sleep and many others.⁷

The chronobiology community has not yet reached a consensus on the relationship between the central clock and the peripheral clocks. Some researchers support a master-slave model where the central clock maintains synchronization, and the peripheral clocks are not affected by any type of stimuli other than the ones the central clock provides. In contrast, there's also a theory that proposes an orchestra like coordination where the SCN plays acts the conductor and each peripheral clock has a certain level of independence, however at same time the SCN still guides the overall circadian rhythm.⁸

The circadian rhythm is shaped by external and internal factors. The external factors are referred to as time-givers or in German “Zeitgebers”, light exposure is the most crucial input received by the SCN. Although light solely affects the central clock however, the food intake sleep/wake control and physical activity are also external factors that impact both central and peripheral clocks. Hormones and synaptic projections are examples of internal factors. The internal factors create cycles of communication between the central and the peripheral clocks, promoting synchrony of circadian rhythm. The relationship is illustrated in *Figure 1*.⁹

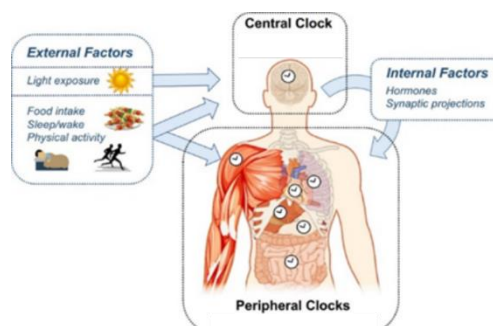


Figure 1- The architecture of the circadian system. (Adapted from “Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans.”)

3. The central clock

The SCN is a compact bilaterally paired cell group in the anterior-ventral hypothalamus of the brain, situated in the dorsal region of the optical chiasm. The most precise description of the SCN is observed in rodents where it measures less than 1mm long and consists of around 16000 tightly packed neurons.¹⁰ In all major mammalian groups it's been identified a consistent subdivision of the SCN neurons. The initial division was made based on the discovery which revealed that different neurons produce different types of peptides. Subsequent refinement of this classification accounted for how peptide production was dictated by neuronal localization. Therefore, the most consensual division classified the neurons into core and shell neurons. The core neurons are primarily responsible for the expression of vasoactive-intestinal polypeptide (VIP) and Gastrin-releasing peptide (GRP), while the dorsal neurons are mainly responsible for producing arginine vasopressin (AVP).¹¹

4. SCN time keeping

Cellular timekeeping in the SCN and other tissues is driven by self-sustained transcriptional-translational feedback loops (TTFLs). A TTFL is an oscillation mechanism in which concentration level of a certain protein regulates the expression or non-expression state of a particular gene. The generation of a controlled SCN rhythms is intrinsically dependent on light's input.¹²

4.1. Generation of the circadian rhythms

Cellular circadian timekeeping begins at dawn, known as circadian time 0 (CT 0). This initial process involves the formation of heterodimers of circadian locomotor output cycles protein kaput (CLOCK) and brain and muscle ARNT-like 1 (BMAL-1), these structures act as positive regulators of the loop, utilizing an enhancer box (E-box) to drive the expression of the negative regulators, period (PER) and cryptochrome (CRY) proteins. Nearing the end of the circadian day (CT 12), there's an accumulation of PER-CRY complexes in the nucleus and they initiate the repression of their own expression. Therefore, throughout the circadian night (CT 12 - CT 24 (CT 0)) PER and CRY mRNA levels fall, and the existing PER-CRY complexes are degraded, allowing the cycle to reset itself after approximately 24 solar hours from the beginning of the previous transcriptional initiation.^{13; 14}

CLOCK and BMAL1 are involved in initiating the PER and CRY expression loop, and enable accessory loops which contribute to stabilising of the overall cycle, as illustrated in Figure 2. The E-box mediated circadian expression of nuclear receptors ROR α , REV-ERB α

and REV-ERB β , act via REV response element (RRE) sequences, which activate or suppress the expression of BMAL-1 transcription. The REV-ERB nuclear receptors take on an active role in regulating the amplitude and period of activity rhythms, as demonstrated in studies using mice where these nuclear receptors have been mutated, and in mice where synthetic REV-ERB agonists have been administered. Thus, the circadian expression output of REV-ERB nuclear receptors created by the core TTFL acts an input onto itself.¹³

The peripheral clocks of the circadian rhythm express rhythmicity in a similar way to the central clock, through TTFLs, however the peripheral clocks rhythm is usually dependent from the master input that comes from the SCN. Where the SCN main input is light, the same input doesn't affect the peripheral clocks independently from the SCN coordination. Therefore, the peripheral clocks are much more susceptible to other external outputs such as sleep, food intake and physical exercise.^{9; 13; 15}



Figure 2 - Simplified scheme of the molecular transcriptional-translational feedback loops of the mammalian circadian clock. CLOCK – Circadian Locomotor Outputs Cycles Protein Kaput; BMAL 1 – Brain and Muscle ARNT-like 1; E-box – Enhancer Box; PER – Period; CRY- cryptochrome; RRE- REV response element (Adapted from “Generation of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus”)

4.2. The SCN input pathways

The phase of the SCN clock gene expression and SCN neural firing is kept in alignment with external photic cues received in the light-sensing melanopsin expressing intrinsically photoreceptive retinal ganglion cells (ipRGC) which project to the SCN via the retinohypothalamic tract (RHT). In 1972, studies demonstrated for the first time a distinct monosynaptic neuronal pathway to the SCN in mammals, and through further research using the subunit B of cholera toxin as an anterograde tracer, it was possible to visualize projections of the RTH in several mammalian species.^{16; 17}

The RTH originates from a distinct subpopulation of ipRGCs widely distributed in the retina. The nerve terminals reach the ventral bilateral SCN, while some axons have bifurcations that end up reaching the intergeniculate leaflet (IGL). The RTH nerves target several areas in the forebrain, having influence in the non-image forming photo perception and homeostatic regulation of sleep.¹⁸

Although detecting light through structures such as rods and cones that convert the light signal into electrical signals is essential, light also serves as a non-visual input in the brain

via the ipRGCs. Melanopsin a short-wavelength-sensitive photopigment, makes use of the light differentials to signal the SCN and entrain the circadian cycle. The main neurotransmitters used in the RTH are the glutamate and the pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP).^{19; 20}

Glutamate and PACAP interact respectively with the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor and the PAC₁ receptors present in the SCN.²¹ From the activation of the NMDA receptor the second messenger Ca²⁺ is released into the SCN, inducing a phase change, while when the PAC₁ receptor is activated a G protein cascade is initiated, culminating in the increase of intracellular cyclic AMP (cAMP). The intracellular Ca²⁺ and cAMP activate the calcium-dependent protein kinase (CAMK) and the protein kinase A (PKA) in order to phosphorylate the cAMP response element (CRE)-binding protein (CREB). Through this phosphorylation the transcriptional-translational feedback loop is initiated.^{19; 22}

In order to keep the circadian clock from unnecessarily adjusting over minor light inputs, there's a separate subpopulation of ipRGCs who actively dampens the sensitivity of the SCN through a separate circuit where GABA is used as an inhibitory neurotransmitter.²³

The ipRGCs as previously referred also enervate the intergeniculate leaflet (IGL) of the thalamus, this structure was first recognized as a distinct morphological structure by Hickey and Spear in 1976²⁴ being located between the ventral lateral geniculate and the dorsal lateral geniculate, this structure projects onto the SCN through the geniculohypothalamic tract (GHT). This pathway contains neurons that use neurotransmitters such as neuropeptide Y, enkephalin, GABA, and neurotensin, which produce an important output in order to enable phase shifts in the circadian rhythm.^{25; 26; 27}

Another source of inputs of the SCN is the raphe nuclei, divided into median raphe nuclei and dorsal raphe nuclei, it is the main source of serotonin in the mammalian brain, however it has been observed that only 50% of this pathway is serotonergic, and that the serotonergic input produced by these cells is necessary to induce phase shifts.

Nevertheless, in order for the phase shift to occur there has to occur a simultaneous stimulation of the serotonergic and non-serotonergic cells. Within the category of non-serotonergic cells, it's possible to single out the cells containing Vesicular Glutamate Transporter Type 3 (VGLUT3). It is believed that this cells project to specific SCN cell groups, creating a glutamate input in the SCN separated from the RTH glutamate input.²⁸

4.3. SCN output pathways

The SCN projects into the thalamus, preoptic area, forebrain and hypothalamus. The main neurotransmitters used by SCN are GABA, VIP and AVP. Despite not yet fully

understood SCN outputs have a wide array of effects through the body and make use of different projections or combination of projections in order to maintain the proper order of the circadian cycle.¹⁹

5. Relationship between sleep and circadian rhythm

Sleep is a circadian dependent neurochemical process, that plays a necessary part in the health and well-being of an individual. Sleep allows for the brain to restore its energy levels, by dampening the effect of external inputs. A proper Sleep schedule has been linked to improvements in learning, memory consolidation and activation of the glymphatic system which is connected to the clearance of metabolites in the brain.^{29; 30}

The activation of the SCN by light sends signals to the pineal gland. The Pineal gland is a highly vascularized, and secretory neuroendocrine organ. It is located in the mid-line of the brain, outside the blood brain barrier and it is connected to the third ventricle by a short stalk. The main function of pineal gland is to convey information about the current light-dark cycle through the synthesis of melatonin. When light signals activate the SCN it in turn communicates to the pineal gland that ends up downregulating the synthesis of melatonin. The neurochemical activation pathway of the pineal gland can be seen in Figure 3 where light reaches the retina and through the RHT is connected to the SCN, the SCN in turn projects to the paraventricular nucleus (PVN) which sends the information to the spinal cord, this pulse then is projected into the superior cervical ganglion (SCG), and finally reaches the pineal gland.^{30; 31}

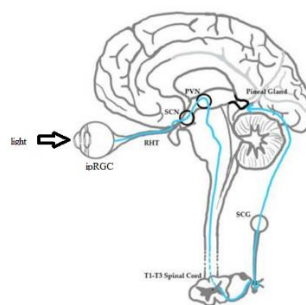


Figure 3 - Neurochemical pathway of light stimulus to the pineal gland. RHT retinohypothalamic tract; SCN- suprachiasmatic nucleus; PVN- paraventricular nucleus; SCG- superior cervical ganglion (Adapted from “Circadian rhythm dysregulation and restoration: The role of melatonin.”)

6. Melatonin

Until the mid-1960s, melatonin was believed to be exclusively produced in the pineal gland. However, during that period, it was discovered that melatonin is synthesized in various

locations including the bone marrow, gastrointestinal tract, cerebellum, and other areas of the body.

Melatonin is biosynthesized through the hydroxylation and decarboxylation of tryptophan into serotonin, after that N-acetyltransferase transforms serotonin into N-acetylserotonin, which is subsequently methylated by hydroxyindole-O-methyltransferase in order to form melatonin. Such mechanism can be visualised in Figure 4. Once synthesized melatonin gets distributed to most of the bodily fluids through the blood stream, and it's in the liver that melatonin undergoes biotransformation in order for it to be excreted.^{15; 30; 32}

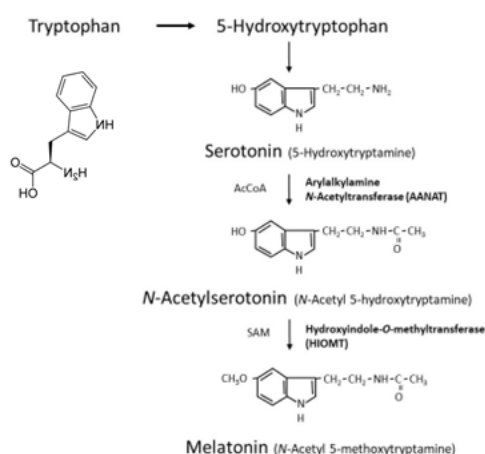


Figure 4 - Melatonin synthesis process (Adapted from “Physiology of the Pineal Gland and Melatonin”)

The biotransformation of melatonin can be accomplished through 3 main pathways which are illustrated in Figure 5. The first one and the most common makes use of the cytochrome P450 monooxygenase complex, that hydroxylates melatonin on the carbon 6, resulting in 6-hydroxymelatonin, the new hydroxy group already polarizes the molecule to some extent however, the new hydroxy group is sulphated forming 6-sulfatoxymelatonin.³³

Another pathway of melatonin's biotransformation occurs when melatonin suffers a O-demethylation forming N-acetyl-5-hydroxytryptane. The resulting hydroxy group on the carbon 5 is further conjugated into a sulfate or a glucuronide in order to be eliminated.³³

The last pathway occurs to a minor extent and begins with a deacetylation of the acetamido group, resulting in the synthesis of 5-metoxytryptane, which can be further metabolized into a range of minor metabolites.³³

All the above-mentioned metabolites are far more polar than melatonin leading to their secretion in urine due to their higher affinity to water.

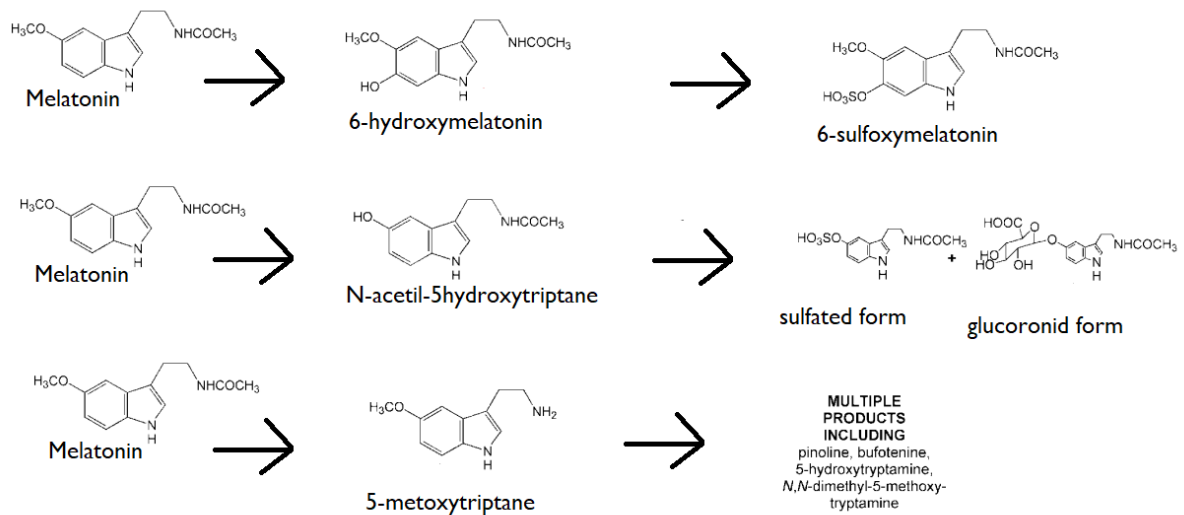


Figure 5 - Melatonin biotransformation pathways “Metabolism of Melatonin by Human Cytochromes P450”

During the cycle of life melatonin production suffers properly documented changes. The cycle of production only starts at 2 to 3 months of age before that the baby is subjected to an event denominated as maternal photoperiodic adaptative programming, where maternal melatonin reaches the baby’s circulation through the umbilical cord and allows the SCN to start to prepare itself to deal properly with environmental day/night changes after birth. From the moment melatonin starts to be independently produced the amount produced starts to exponentially increase until reaching a peak on average at prepubertal children. After that melatonin production slowly decreases until in old age it has been reported that 90-year-olds produce nearly 20% less melatonin than the average adult. This decrease in melatonin production is brought about by various reasons such as the calcification of the pineal gland, impairment in noradrenergic innervation to the gland and a decrease in light detection capacity.³¹

The exact pathway by which melatonin exerts its sleep-inducing properties remains to be confirmed. However, there’s compelling evidence to suggest that melatonin works by increasing blood flow to distal skin regions resulting in heat loss, and the subsequent temperature decrease which in turn promotes sleepiness.³⁴

7. Melatonin effects on the SCN

Melatonin has the ability to penetrate the blood brain barrier and has been demonstrated to deliver valuable information to the SCN having been noted that the peak of melatonin’s effect happens in two distinct daily occasions, dusk and dawn, at these specific time intervals melatonin activates protein kinase C (PKC) phosphotransferase in order to

induce phase shifts in the SCN. Melatonin and the SCN have a reciprocal relationship in which the SCN receives feedback from melatonin and also directs its synthesis; melatonin can alter clock gene expression and electrical activity in the SCN by binding to two high-affinity G protein-coupled receptors, MT1 and MT2. MT1 and MT2 receptors are expressed throughout the SCN; however, MT1 receptors are found to be more densely expressed in the ventrolateral core, whereas MT2 receptors are present in lower quantities.³⁵ Both MT1 and MT2 receptors inhibit CREB phosphorylation in order to regulate clock gene expression, however each melatonin receptor subtype provides unique information to the SCN.

In a study that compared the behaviour differences between Wild type (WT) C57 mice with mice which had been subjected to the gene deletion of MT1 melatonin receptor referred to as MT1KO C57 mice, it was found that the deletion of the MT1 receptor provoked a decrease in mobility on a forced swim test, pointing towards depressant like activity while in a marble burial test the mice have shown a consistent decrease in the number of buried marbles indicating anxiolytic behaviour, furthermore it was noted that in the control group of WT C57 mice the behavioural pattern followed a bimodal pattern of activity, where one behavioural pattern starting at the beginning of the dark period CT14-CT17 and the second pattern begins at the light period CT21-CT2, the second mode seems to extend itself into the light period by 2 to 3 hours, while usually separated by a resting period of 2 to 3 hours, MT1KO mice differently from the former ones show a unimodal pattern of activity that extended for two hours after the end of the dark period and no clear rest period was observed, these results suggest that MT1 receptor actively regulates neuronal pathways in a way which produces spontaneous alterations in mice behaviour patterns.³⁶

MT2 receptors, which are present in the SCN, play a role in mediating phase shifts during periods with low or absent endogenous melatonin production, such as dusk and dawn. Activation of PKC by MT2 receptors is believed to be involved in this process. Moreover, it is hypothesized that MT2 activation provides information about the duration of nighttime, thereby contributing to the maintenance of synchrony in photoperiodic responses. Additionally, MT2 activation may modulate the clock's responsiveness to other neurochemical regulators of clock phase during these specific time periods. This intricate mechanism helps regulate circadian rhythms in response to changing environmental cues, such as the shortening of the photic period. By integrating these cues, the SCN can adjust and synchronize the internal clock accordingly, allowing for adaptive responses to the natural variations in daylight duration.

8. Melatonin a circadian marker.

Melatonin is a valuable circadian marker due as its concentration in the bloodstream is mainly impacted by the external factor light and its detection by the central clock, providing a robust and dependable source of data for circadian rhythm studies.³⁸

8.1. Melatonin quantification methods.

In serum samples melatonin can be determined using a simple extraction method. Through the addition of dichloromethane as an organic phase in a 1:1, Volume/Volume ratio, melatonin can be extracted from the aqueous phase to the organic phase. The organic phase will subsequently be dried under a nitrogen atmosphere to concentrate the melatonin. The process in question averages a yield of around 70%.³⁹

Another source of melatonin samples can come from its detection in saliva. This biological sample is less intrusive to collect and through the same process referenced above melatonin can also be isolated and quantified. However, melatonin concentration in saliva is about 40% of the total concentration of melatonin in the bloodstream, so this fact must be kept in mind when collecting and reviewing data.³⁹

8.2. Circadian phase and phase response curve

A circadian phase can be referred to as the timing of an occurring daily circadian rhythm. In a more simplistic way, the day can be divided in the light phase and the dark phase, and when studying the circadian cycle and the circadian rhythm can be described as the oscillation of biological phenomena happening in each phase.⁹

The phase response curve (PRC) comes from the impact of any external stimuli in the normal circadian rhythm. The PRC can be drawn based on data collect by any specific population, however the subsequent data extrapolated from it regards only the population in question. As an example, we can trace light phase response curves for humans and for mice, however when looking for data regarding any of these populations the respective curve should be used. After selecting the population, the external stimuli should be also selected, some useful ones are light and melatonin and the respective PRCs for humans is illustrated in figure 6. By analysing a PRC, we can find the effect of a certain stimulus on the phase in which the circadian cycle is in, and through that we can possibly manipulate the stimulus in order to attain any desired phase shift.³⁸

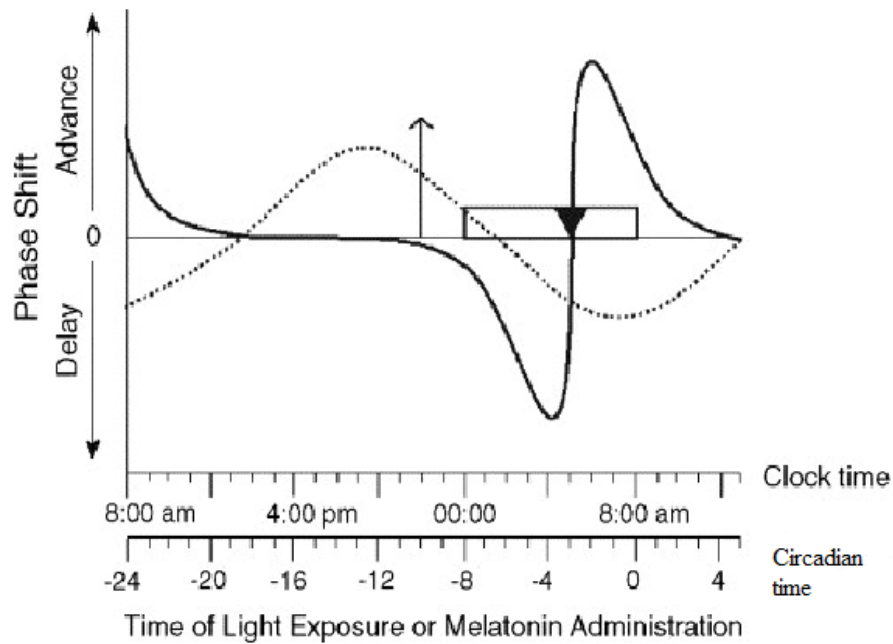


Figure 6 - light (dark line) and melatonin (dashed line) PRC, PRC- Phase response curve, (Adapted from “Dim light melatonin onset (DLMO): A tool for the analysis of circadian phase in human sleep and chronobiological disorders”)

8.3. Dim light melatonin onset.

As previously discussed, melatonin synthesis is directed by the SCN, and it only begins when the SCN receives the information that light is fading. The dim light melatonin onset (DLMO) represents exactly the moment where the aforementioned happens. Therefore, it is a great marker for assessment of the circadian rhythm and can prove to be useful in treatment of sleep disorders caused by a misalignment between the circadian rhythm and the sleep schedule. ^{38; 40}

9. Sleep-wake disorders linked with melatonin and circadian deregulation.

The circadian rhythm and the sleep wake state are intrinsically dependent from one another the dysregulation on any or either of these can lead into the disruption of sleep homeostasis. According to the International Classification of Sleep Disorders Third Edition publicised by the American Academy of Sleep Medicine, circadian rhythm sleep-wake disorders (CRSWDs) are a distinct class of sleep disorders, characterized by a chronic or recurrent pattern of sleep-wake rhythm disruption primarily caused by an alteration in the endogenous circadian timing system or misalignment between the endogenous circadian rhythm and the

sleep-wake schedule desired or required. In table I we find denominated all the CRSWDs known.⁴¹

Table I- Circadian rhythm sleep wake disorders, (Adapted from “International classification of sleep disorders-third edition highlights and modifications”)

Circadian rhythm sleep wake disorders

Delayed sleep-wake phase disorder
Advanced sleep-wake phase disorder
Irregular sleep-wake phase disorder
Non-24-h sleep-wake disorder
Jet lag disorder
Shift work disorder

9.1. Delayed sleep-wake phase disorder

The delayed sleep-wake phase disorder (DSWPD), also known as delayed sleep phase syndrome it is seen as a delay of approximately 2 hours or more in the onset of both sleep and wake states from the desired or normal timing of onset in Figure 7 we can observe the graphical representation of the mentioned delay based on the melatonin concentration in the plasma. This condition may lead to the display of either or both sleep-onset insomnia or the struggling to wake up at the desired time. The physiological impacts associated to this disorder are as follow, significant daytime functional and cognitive impairments, which can be expressed as excessive sleepiness, fatigue, deficits in concentration, memory, and attention. The precise etiology of this condition is yet to be determined. There are many factors believed to be involved in the development of this condition the most prevalent ones are genetic, environmental and behavioural factors.^{32; 42; 43}

9.2. Advanced sleep-wake phase disorder

Advanced sleep-wake phase disorder (ASWPD), in a similar way to DSWPD can also be referred to as advanced sleep phase syndrome. The occurrence of this disorder is rather rare and is observed when the onset of sleep and wake time occurs at least 2 hours earlier to the societal norm. People who suffer from this condition tend to fall asleep between 6 and 9 in the evening and wake up between 2 to 5 in the early dawn. This can also be observed in a graphical representation in Figure 7 where the circadian time is related to the melatonin concentration in plasma. The main complaints linked with ASWPD are drowsiness and difficulty to stay awake in the evening, while waking up before dawn and not being able to fall

back asleep. Neither the quality of sleep nor the cognitive ability is perturbed, however falling asleep early directly impacts the activities that can be carried out in the evening. Despite the etiology also being unclear the main factors that dictate the appearance of this disorder are genetic ones, despite of behavioural factors also playing a part on it.^{43; 44}

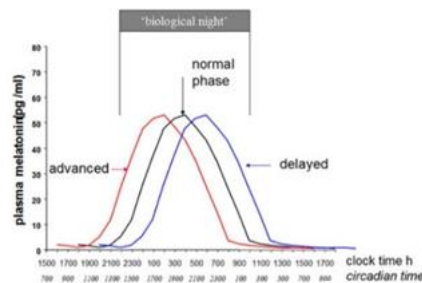


Figure 7 - Simplified diagram of an advanced and a delayed phase. (Adapted from “Physiology of the Pineal Gland and Melatonin”)

9.3. Irregular sleep-wake phase disorder

Irregular sleep-wake phase disorder (ISWPD) is characterized by the absence of a discernible circadian pattern regarding the sleep-wake state. This disorder has been shown to provide a normal daily sleep duration however, instead of experiencing a continuous or minimally interrupted sleep state, individuals suffering from ISWPD tend to have fragmented sleep episodes, distributed unevenly through the day. Experiencing this condition means that sleep induction is not aligned with any external cues, leading to bouts of sleep occurring in undesirable daytime periods. ISWPD has a strong association with neurological impairment, wherein lesions in any part of the main circadian circuit and or any neurodegenerative condition are the main driving factors for the development of this disorder. Nevertheless, a very poor sleep hygiene may also contribute to the acquisition of this condition.^{45; 46}

9.4. Non-24-hour sleep-wake disorder

The non-24-hour sleep-wake disorder also known as free-running disorder occurs when an individual’s circadian rhythm is clearly disconnected to the external cues provided by light entrainment. As a result, it is rarely observed in normally sighted individuals; however, it is commonly found in totally blind people. Studies have found that the length of the circadian cycle is longer than 24 hours when there are no external timing cues detected by a subject. Therefore, a normal cycle for a someone suffering from this disorder is also longer than 24h, resulting in a constant drift of the onset and offset of sleep.^{45; 46; 47}

9.5. Jet lag disorder

The Jet lag disorder has only been possible to observe since the development of high-speed air transportation. Jet lag is acquired when an individual rapidly travels to at least 2 to 3 time zones from his starting point, creating a desynchrony in the circadian system because it cannot immediately adjust to the light-dark cycle in the new time zone. Realignment of the circadian cycle is not immediate and may take several days, depending on the time difference between different time zones. This disorder may cause symptoms such as insomnia, excessive sleepiness, decreases in the overall sleep time, gastrointestinal discomfort, and poor physical and mental performance.^{45; 48; 49}

9.6. Shift work disorder

The current paradigm of the global market involves 24/7 consumer service. In order for the former to be archived shift jobs have had to be developed, where the overall production of services never stops and is kept running by rotating a team through different shifts. When a worker is assigned to a work shift outside the right phase of their biological rhythm it causes a misalignment in the circadian rhythm. This lack of harmony between the phase of the circadian cycle and the need to be awake or asleep at a desired time can cause disrupted daytime sleep, and excessive nocturnal sleepiness. The aforementioned symptoms may lead to further complications such as the increase of work-related errors, fatigue and depression and/or anxiety.^{45; 48; 50}

10. Circadian Rhythm sleep-wake disorders treatment strategies

A key feature shared among all the CRSWDs is the misalignment between the desired sleep schedule and the phase in which the circadian rhythm is found. Therefore, any treatment employed towards dealing with the aforementioned disorders aims to align both the circadian cycle with the sleep schedule in order to achieve circadian homeostasis.^{45; 46}

The most frequently employed treatment procedures aimed at promoting this homeostasis encompass both non-pharmacological and pharmacological approaches. Among the non-pharmacological methods are photic treatment, chronotherapy and the cultivation of healthy sleep habits. Additionally, pharmacological interventions such as the administration of melatonin in the evening, offer a valuable avenue of treatment.⁴³

A team of scientists lead by Czeisler developed the chronotherapy protocol where the patient is expected to postpone gradually the time that he goes to bed. In order to achieve

the best possible result, the patient should delay the going to bed time by 3 hours, wait 2 to 5 days and delay it again, until the circadian rhythm and the sleep schedule are aligned with the desires of the patient. This avenue of treatment is not the best due to lack of significant results and a very unpractical protocol to follow.^{43; 51}

The photic treatment was designed based on the fact that light can actively shift the circadian phase and factors such as the time of exposure, intensity of the light source and the duration of exposure have a direct influence on signal received in the SCN. The photic treatment protocol consists on the exposure of the patient to a bright light source for half an hour after waking up in order to produce a significant signal that will strive to advance the phase of the circadian cycle. The best light source is the morning blue light, however; in the case of any impediment to attain the natural light there are artificial light sources capable of emulating the natural light effect. Furthermore, in order to ensure a proper alignment of the daytime schedule and the circadian time the patient is also advised to avoid bright light exposure during the evening and/or night, so that the advance of the cycle accompanies the advance of the day, in order to successfully avoid light exposure during said times blue light filtering glasses can be used.⁴³

As previously mentioned, melatonin is produced in response to a lack of light and it sends a signal to the body to prepare itself to sleep. Melatonin supplementation can shift the circadian phase and, in a way, jump start the sleep state induction. As far as patients suffering from CRSWDs it has been studied the impact of the administration of doses in the range of 0.3 to 5.0 mg of melatonin on that group of people and it was found that melatonin supplementation should be administered 3 to 6 hours before DLMO.⁴³

Both photic treatment and melatonin supplementation have shown some results when applied separately, however; the best results in treating CRSWDs are attained when these two are used in tandem and the patient also has healthy sleep habits.⁵²

Healthy sleep habits are paramount to fall asleep at the desired time and to be able to experience an uninterrupted sleep. In Table 2 we can find the ten healthy sleep habits recommended to follow in order to attain the aforementioned sleep results.⁵³

Table 2 - Healthy sleep Hygiene top ten recommendations (Adapted from: Sleep Hygiene for Optimizing Recovery in Athletes: Review and Recommendations.)

1. Don't go to bed until you are sleepy. If you aren't sleepy, get out of bed and do something else until you become sleepy.
2. Regular bedtime routines/rituals help you relax and prepare your body for bed (reading, warm bath, etc.).
3. Try to get up at the same time every morning (including weekends and holidays).
4. Try to get a full night's sleep every night and avoid naps during the day if possible (if you must nap, limit to 1 h and avoid nap after 3 p.m.).
5. Use the bed for sleep and intimacy only; not for other activities such as TV, computer or phone use, etc.
6. Avoid caffeine if possible (if must use caffeine, avoid after lunch).
7. Avoid alcohol if possible (if must use alcohol, avoid right before bed).
8. Do not smoke cigarettes or use nicotine, ever.
9. Consider avoiding high-intensity exercise right before bed (intense exercise may raise cortisol, which impairs sleep).
10. Make sure bedroom is quiet, as dark as possible, and a little on the cool side rather than warm.

11. Pharmacist role in the regulation of the circadian rhythm

The pharmacist plays an unmatched role in public healthcare, it is through them that services such as therapy management, administration of medicines, determination of health parameters, identification of risk groups, detection of early signs of disease and promotion of a healthy lifestyle.⁵⁴

The circadian cycle as previously stated guides the organism throughout the day, therefore it has been gathering attention towards its ability to promote health. Sleep management and improvement of sleep quality is a big concern to most people. According to the Portuguese journal "Observador" in the year 2021 in Portugal it was spent around 77,43 million euros on sleeping medicine, it was also noted an increase in the sales of medicine non subject to a medical prescription. This indicates that there's an increasing trend for people who struggle to sleep to seek help in a pharmacy.⁵⁵

The foundation for health promotion comes in non-therapeutic measures and the development of healthy lifestyle habits. A therapeutical approach is in a lot of cases not necessary and ends up dealing with the symptoms instead of treating the cause of any health-related affliction. Understanding the circadian rhythm and its relationship with sleep, and how to align them both can prove to be a non-therapeutical alternative to improve upon the sleep quality of a significative number of people.

Ultimately, pharmacies, through the key staff member, the pharmacist, provide a space through which health-related advice can be transferred from the pharmacist to the patient, resulting in an educational environment. As the sleep disorders mentioned above are very common, and circadian regulation is a valuable tool that can be used to treat them, the pharmacist should be sufficiently trained to be able to advise and teach circadian regulation practices before resorting to more drastic measures.

12. Current research and Future perspectives

The main focus of current research is to link diseases to circadian deregulation, and to gather more information regarding genetical mechanisms that establish connections between the genes and the disorders. Future research will most likely expand on this topic and eventually move to a more personalized approach in the design of treatment strategies for disorders coming from the circadian rhythm. Another avenue of research that also gathers attention is to find out which comes first the circadian misalignment of the gene expression alterations. There's also the potential to improve upon the methods in order to determine the circadian rhythm, turning them into more accessible and accurate tests.^{56; 57}

The circadian cycle and how it affects health is also a subject of study for athlete and performance driven people which aim to achieve peak performance. On the other hand, work conditions are also under research in due to the possibility that night shifts might lead to circadian sleep disorders.^{50; 53; 56}

13. Conclusion

In summary, circadian rhythm is a naturally occurring phenomenon involving a complex network of biological processes, behaviours and molecular events that occur in cycles of approximately 24 hours and is inextricably linked to health and well-being. The circadian cycle is kept in control by the SCN and the peripheral clocks, both are influenced by internal and external factors, and provide synchrony and harmony between the biological rhythms and the daily activities.

The relationship between the central and peripheral clocks is still a subject of investigation within the field of chronobiology. Nevertheless, SCN stands out as a central player in circadian regulation. Light serves as the primary source of information received by the SCN, allowing it to align the circadian rhythm and the daily schedule.

Disruptions in the circadian rhythm can significantly impact overall health, affecting sleep quality, cognitive function, and general well-being. In this context, pharmacists can play a crucial role by raising awareness and providing accurate information. This contribution can aid identifying, treating, and mitigating circadian disorders arising from disturbances in the circadian rhythm.

In conclusion, it becomes evident that comprehending the circadian rhythm and its management can lead to a healthier lifestyle and improved sleep quality, ultimately contributing to a healthier society.

Bibliography

1. ERWIN H. ACKERKNECHT - **A Short History of Medicine**
2. VITATERNA, Martha Hotz; TAKAHASHI, Joseph S.; TUREK, Fred W. - **Overview of Circadian Rhythms**
3. SERIN, Yeliz; ACAR TEK, Nilüfer - Effect of Circadian Rhythm on Metabolic Processes and the Regulation of Energy Balance. **Annals of Nutrition and Metabolism**. ISSN 0250-6807. 74:4 (2019) 322–330. doi: 10.1159/000500071.
4. RICHARDS, Jacob; GUMZ, Michelle L. - Advances in understanding the peripheral circadian clocks. **The FASEB Journal**. ISSN 0892-6638. 26:9 (2012) 3602–3613. doi: 10.1096/fj.12-203554.
5. WEAVER, David R. - The Suprachiasmatic Nucleus: A 25-Year Retrospective. **Journal of Biological Rhythms**. ISSN 07487304. 13:2 (1998) 100–112. doi: 10.1177/074873098128999952.
6. ROSENWASSER, Alan M.; TUREK, Fred W. - Neurobiology of circadian rhythm regulation. **Sleep Medicine Clinics**. ISSN 15564088. 10:4 (2015) 403–412. doi: 10.1016/j.jsmc.2015.08.003.
7. FINGER, Anna Marie; DIBNER, Charna; KRAMER, Achim - Coupled network of the circadian clocks: a driving force of rhythmic physiology. **FEBS Letters**. ISSN 18733468. 594:17 (2020) 2734–2769. doi: 10.1002/1873-3468.13898.
8. RICHARDS, Jacob; GUMZ, Michelle L. - Advances in understanding the peripheral circadian clocks. **The FASEB Journal**. ISSN 0892-6638. 26:9 (2012) 3602–3613. doi: 10.1096/fj.12-203554.
9. POGGIOGALLE, Eleonora; JAMSHED, Humaira; PETERSON, Courtney M. - Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans. **Metabolism**. ISSN 00260495. 84:2018) 11–27. doi: 10.1016/j.metabol.2017.11.017.
10. SCHWARTZ, William J. - Suprachiasmatic nucleus. **Current Biology**. ISSN 09609822. 12:19 (2002) R644. doi: 10.1016/S0960-9822(02)01155-7.
11. MOORE, Robert Y.; SILVER, Rae - Suprachiasmatic nucleus organization. **Chronobiology International**. ISSN 07420528. 15:5 (1998) 475–487. doi: 10.3109/07420529808998703.

12. ASSIS, Leonardo Vinícius Monteiro DE; OSTER, Henrik - The circadian clock and metabolic homeostasis: entangled networks. **Cellular and Molecular Life Sciences**. ISSN 1420-682X. 78:10 (2021) 4563–4587. doi: 10.1007/s00018-021-03800-2.
13. HASTINGS, Michael H.; MAYWOOD, Elizabeth S.; BRANCACCIO, Marco - Generation of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. **Nature Reviews Neuroscience**. ISSN 14710048. 19:8 (2018) 453–469. doi: 10.1038/s41583-018-0026-z.
14. LI, Weitian *et al.* - Perfecting the Life Clock: The Journey from PTO to TTFL. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 24:3 (2023) 2402. doi: 10.3390/ijms24032402.
15. POZA, J. J. *et al.* - Melatonin in sleep disorders. **Neurología (English Edition)**. ISSN 21735808. 37:7 (2022) 575–585. doi: 10.1016/j.nrleng.2018.08.004.
16. HENDRICKSON, Anita E.; WAGONER, Norma; COWAN, W. Maxwell - An autoradiographic and electron microscopic study of retino-hypothalamic connections. **Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie**. ISSN 0302-766X. 135:1 (1972) 1–26. doi: 10.1007/BF00307084.
17. MOORE, Robert Y.; LENN, Nicholas J. - A retinohypothalamic projection in the rat. **The Journal of Comparative Neurology**. ISSN 0021-9967. 146:1 (1972) 1–14. doi: 10.1002/cne.901460102.
18. HANNIBAL, Jens - Comparative Neurology of Circadian Photoreception: The Retinohypothalamic Tract (RHT) in Sighted and Naturally Blind Mammals. **Frontiers in Neuroscience**. ISSN 1662-453X. 15:2021). doi: 10.3389/fnins.2021.640113.
19. STARNES, Ashley N.; JONES, Jeff R. - Inputs and Outputs of the Mammalian Circadian Clock. **Biology**. ISSN 2079-7737. 12:4 (2023) 508. doi: 10.3390/biology12040508.
20. WIRZ-JUSTICE, Anna; SKENE, Debra J.; MÜNCH, Mirjam - The relevance of daylight for humans. **Biochemical Pharmacology**. ISSN 00062952. 191:2021) 114304. doi: 10.1016/j.bcp.2020.114304.
21. WEBB, Ian C.; COOLEN, Lique M.; LEHMAN, Michael N. - NMDA and PACAP Receptor Signaling Interact to Mediate Retinal-Induced SCN Cellular Rhythmicity in the Absence of Light. **PLoS ONE**. ISSN 1932-6203. 8:10 (2013) e76365. doi: 10.1371/journal.pone.0076365.
22. IRWIN, Robert P.; ALLEN, Charles N. - Calcium Response to Retinohypothalamic Tract Synaptic Transmission in Suprachiasmatic Nucleus Neurons. **The Journal of**

Neuroscience. ISSN 0270-6474. 27:43 (2007) 11748–11757. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1840-07.2007.

23. SONODA, Takuma *et al.* - A noncanonical inhibitory circuit dampens behavioral sensitivity to light. **Science**. ISSN 0036-8075. 368:6490 (2020) 527–531. doi: 10.1126/science.aay3152.

24. HICKEY, T. L.; SPEAR, P. D. - Retinogeniculate projections in hooded and albino rats: An autoradiographic study. **Experimental Brain Research**. ISSN 0014-4819. 24:5 (1976). doi: 10.1007/BF00234968.

25. GLASS, J. David *et al.* - On the intrinsic regulation of neuropeptide γ release in the mammalian suprachiasmatic nucleus circadian clock. **European Journal of Neuroscience**. ISSN 0953816X. 31:6 (2010) 1117–1126. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07139.x.

26. MORIN, Lawrence P.; BLANCHARD, Jane H. - Neuromodulator content of hamster intergeniculate leaflet neurons and their projection to the suprachiasmatic nucleus or visual midbrain. **Journal of Comparative Neurology**. ISSN 00219967. 437:1 (2001) 79–90. doi: 10.1002/cne.1271.

27. MOORE, Robert Y.; CARD, J. Patrick - Intergeniculate leaflet: An anatomically and functionally distinct subdivision of the lateral geniculate complex. **The Journal of Comparative Neurology**. ISSN 0021-9967. 344:3 (1994) 403–430. doi: 10.1002/cne.903440306.

28. YAMAKAWA, Glenn R.; ANTLE, Michael C. - Phenotype and function of raphe projections to the suprachiasmatic nucleus. **European Journal of Neuroscience**. ISSN 0953816X. 31:11 (2010) 1974–1983. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07228.x.

29. ZISAPEL, Nava - New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian rhythms and their regulation. **British Journal of Pharmacology**. ISSN 00071188. 175:16 (2018) 3190–3199. doi: 10.1111/bph.14116.

30. 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.

31. ARENDT, Josephine; AULINAS, Anna - **Physiology of the Pineal Gland and Melatonin**

32. PATEL, Shrey *et al.* - Revisiting the pineal gland: a review of calcification, masses, precocious puberty, and melatonin functions. **International Journal of Neuroscience**. ISSN 0020-7454. 130:5 (2020) 464–475. doi: 10.1080/00207454.2019.1692838.
33. MA, Xiaochao *et al.* - Metabolism of melatonin by human cytochromes P450. **Drug Metabolism and Disposition**. ISSN 00909556. 33:4 (2005) 489–494. doi: 10.1124/dmd.104.002410.
34. CAJOCHEN, Christian; KRÄUCHI, K.; WIRZ-JUSTICE, A. - Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. **Journal of Neuroendocrinology**. ISSN 09538194. 15:4 (2003) 432–437. doi: 10.1046/j.1365-2826.2003.00989.x.
35. KLOSEN, Paul *et al.* - MT1 and MT2 melatonin receptors are expressed in nonoverlapping neuronal populations. **Journal of Pineal Research**. ISSN 0742-3098. 2019) e12575. doi: 10.1111/jpi.12575.
36. ADAMAH-BIASSI, E. B.; HUDSON, R. L.; DUBOCOVICH, M. L. - Genetic deletion of MT1 melatonin receptors alters spontaneous behavioral rhythms in male and female C57BL/6 mice. **Hormones and Behavior**. ISSN 10956867. 66:4 (2014) 619–627. doi: 10.1016/j.yhbeh.2014.08.012.
37. HUNT, Amanda E. *et al.* - Activation of MT₂ melatonin receptors in rat suprachiasmatic nucleus phase advances the circadian clock. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**. ISSN 0363-6143. 280:1 (2001) C110–C118. doi: 10.1152/ajpcell.2001.280.1.C110.
38. PANDI-PERUMAL, Seithikurippu R. *et al.* - Dim light melatonin onset (DLMO): A tool for the analysis of circadian phase in human sleep and chronobiological disorders. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**. ISSN 02785846. 31:1 (2007) 1–11. doi: 10.1016/j.pnpbp.2006.06.020.
39. ALMEIDA, Eduardo Alves DE *et al.* - Measurement of melatonin in body fluids: Standards, protocols and procedures. **Child's Nervous System**. ISSN 0256-7040. 27:6 (2011) 879–891. doi: 10.1007/s00381-010-1278-8.
40. KEIJZER, Henry *et al.* - Why the dim light melatonin onset (DLMO) should be measured before treatment of patients with circadian rhythm sleep disorders. **Sleep Medicine Reviews**. ISSN 10870792. 18:4 (2014) 333–339. doi: 10.1016/j.smr.2013.12.001.

41. SATEIA, Michael J. - International classification of sleep disorders-third edition highlights and modifications. **Chest**. ISSN 19313543. 146:5 (2014) 1387–1394. doi: 10.1378/chest.14-0970.
42. WYATT, James K. - Delayed Sleep Phase Syndrome: Pathophysiology and Treatment Options. **Sleep**. ISSN 1550-9109. 27:6 (2004) 1195–1203. doi: 10.1093/sleep/27.6.1195.
43. SUN, Shi-Yu; CHEN, Gui-Hai - Treatment of Circadian Rhythm Sleep–Wake Disorders. **Current Neuropharmacology**. ISSN 1570159X. 20:6 (2021) 1022–1034. doi: 10.2174/1570159x19666210907122933.
44. HIDA, Akiko; KITAMURA, Shingo; MISHIMA, Kazuo - Pathophysiology and pathogenesis of circadian rhythm sleep disorders. **Journal of Physiological Anthropology**. ISSN 1880-6805. 31:1 (2012) 7. doi: 10.1186/1880-6805-31-7.
45. STEELE, Tyler A. *et al.* - Circadian Rhythm Sleep–Wake Disorders: a Contemporary Review of Neurobiology, Treatment, and Dysregulation in Neurodegenerative Disease. **Neurotherapeutics**. ISSN 1933-7213. 18:1 (2021) 53–74. doi: 10.1007/s13311-021-01031-8.
46. SACK, Robert L. *et al.* - Circadian Rhythm Sleep Disorders: Part II, Advanced Sleep Phase Disorder, Delayed Sleep Phase Disorder, Free-Running Disorder, and Irregular Sleep-Wake Rhythm. **Sleep**. ISSN 1550-9109. 30:11 (2007) 1484–1501. doi: 10.1093/sleep/30.11.1484.
47. CZEISLER, Charles A. *et al.* - Stability, Precision, and Near-24-Hour Period of the Human Circadian Pacemaker. **Science**. ISSN 0036-8075. 284:5423 (1999) 2177–2181. doi: 10.1126/science.284.5423.2177.
48. REID, Kathryn J.; ABBOTT, Sabra M. - Jet Lag and Shift Work Disorder. **Sleep Medicine Clinics**. ISSN 1556407X. 10:4 (2015) 523–535. doi: 10.1016/j.jsmc.2015.08.006.
49. JANSE VAN RENSBURG, Dina C. *et al.* - Managing Travel Fatigue and Jet Lag in Athletes: A Review and Consensus Statement. **Sports Medicine**. ISSN 0112-1642. 51:10 (2021) 2029–2050. doi: 10.1007/s40279-021-01502-0.
50. CHENG, Philip; DRAKE, Christopher - Shift Work Disorder. **Neurologic Clinics**. ISSN 07338619. 37:3 (2019) 563–577. doi: 10.1016/j.ncl.2019.03.003.
51. CZEISLER, Charles A. *et al.* - Chronotherapy: Resetting the Circadian Clocks of Patients with Delayed Sleep Phase Insomnia. **Sleep**. ISSN 0161-8105. 4:1 (1981) 1–21. doi: 10.1093/sleep/4.1.1.

52. CROWLEY, Stephanie J.; EASTMAN, Charmane I. - Phase advancing human circadian rhythms with morning bright light, afternoon melatonin, and gradually shifted sleep: can we reduce morning bright-light duration? **Sleep Medicine**. ISSN 13899457. 16:2 (2015) 288–297. doi: 10.1016/j.sleep.2014.12.004.
53. VITALE, Kenneth C. *et al.* - Sleep Hygiene for Optimizing Recovery in Athletes: Review and Recommendations. **International Journal of Sports Medicine**. ISSN 0172-4622. 40:08 (2019) 535–543. doi: 10.1055/a-0905-3103.
54. **A Farmácia Comunitária** - [Consult. 29 ago. 2023]. Disponível em <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria>.
55. **Portugueses gastaram 77,43 milhões de euros em comprimidos para dormir no segundo ano da pandemia** - [Consult. 29 ago. 2023]. Disponível em <https://observador.pt/2022/03/18/portugueses-gastaram-7743-milhoes-de-euros-em-comprimidos-para-dormir-no-segundo-ano-da-pandemia>.
56. NEVES, Ana R. *et al.* - Circadian rhythm and disease: Relationship, new insights, and future perspectives. **Journal of Cellular Physiology**. ISSN 10974652. 237:8 (2022) 3239–3256. doi: 10.1002/jcp.30815.
57. SHI, Shu Qun; JOHNSON, Carl Hirschie - Circadian biology and sleep in monogenic neurological disorders and its potential application in drug discovery. **Current Opinion in Behavioral Sciences**. ISSN 23521546. 25:2019) 23–30. doi: 10.1016/j.cobeha.2018.06.006.