



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Ana Cláudia Vasconcelos da Silva Soares

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Cardiovascular Diseases: A Perspective Around the Clock” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. Carlos Cunha Brás, da Dra. Dina Cordeiro Lopes e do Professor Doutor Diogo da Fonseca apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Ana Cláudia Vasconcelos da Silva Soares

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Cardiovascular Diseases: A Perspective Around the Clock” referentes à Unidade Curricular "Estágio", sob a orientação do Dr. Carlos Cunha Brás, da Dra. Dina Cordeiro Lopes e do Professor Doutor Diogo da Fonseca apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019

Eu, Ana Cláudia Vasconcelos da Silva Soares, Estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014208174, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Cardiovascular Diseases: A Perspective Around the Clock” 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 toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 03 de setembro de 2019.

Ana Cláudia Vasconcelos da Silva Soares

(Ana Cláudia Vasconcelos da Silva Soares)

Agradecimentos

À minha Mãe, ao meu Pai e ao meu Irmão, por formarem a casa onde eu vou sempre querer voltar. Fazem sempre mais do que aquilo que eu algum dia vos vou poder agradecer.

À minha Família! Em especial à minha avó Maria, por ser sempre a minha Luz e ao meu tio Rui por estar sempre lá para me encaminhar.

Aos meus Padrinhos, não só por terem tornado possível um dos estágios, mas por me acompanharem desde sempre. São os melhores que eu poderia ter tido.

Ao João, por praticamente tudo. Não teria sido igual.

Aos Amigos que me acompanharam até esta aventura. Aos que aqui ganhei e que tornaram tudo muito melhor.

Aos meus colegas de casa, ou melhor, aos meus Amigos de Casa, por me terem segurado as pontas e por terem cuidado de mim, tal e qual como as famílias fazem.

A toda a Equipa Técnica da Farmácia Aliança pela partilha e pela amizade, em especial ao Dr. Carlos Cunha.

A toda a Equipa da Direção de Avaliação de Medicamentos do Infarmed, em especial à Dra. Dina Lopes e à Dra. Leonor Chambel.

Ao Professor Doutor Diogo da Fonseca por toda a preocupação, disponibilidade e trabalho que aplicou na orientação da minha monografia.

A Coimbra, pelas memórias que tantas saudades deixarão.

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Aliança

Parte II

Relatório de Estágio em Assuntos Regulamentares

INFARMED

Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P

Parte III

Monografia

“Cardiovascular Diseases: A Perspective Around the Clock”

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas	9
I. Introdução.....	10
II. Farmácia Aliança	11
III. Análise SWOT	11
A. Pontos Fortes.....	11
1. Formação da Equipa Técnica.....	11
2. Dinamização do Espaço Físico da Farmácia	11
3. Monitorização de Parâmetros Bioquímicos e Biofísicos	12
4. Rastreio numa Residência Sénior	13
5. Plano Curricular do MICF no Atendimento ao Público.....	13
B. Pontos Fracos	14
1. Plano de Estágio Pouco Definido.....	14
2. Espaço Designado para a Monitorização dos Parâmetros Exíguo	14
3. Escassa Preparação de Medicamentos Manipulados	15
C. Oportunidades.....	15
1. Localização e Horário de Funcionamento Alargado.....	15
2. Diversidade de Produtos.....	16
3. Sistema de Gestão da Garantia da Qualidade	16
4. Serviços de Preparação Individualizada da Medicação em Residências Sénior	17
5. Componente Financeira e de Gestão.....	17
6. Contacto com o Conceito: Homeopatia.....	17
D. Ameaças	18
1. Medicamentos Esgotados.....	18
2. Indicação Relativa do Preço Máximo a Pagar em Receitas Eletrónicas	18
3. Sistema de Comparticipações	19
IV. Integração da Aprendizagem Teórica na Prática Profissional.....	20
V. Considerações Finais.....	22
VI. Referências Bibliográficas.....	23
VII. Anexo.....	24

Parte II – Relatório de Estágio em Assuntos Regulamentares

Lista de Abreviaturas	26
I. Introdução.....	27

II. INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.	28
III. Análise SWOT	29
A. Pontos Fortes.....	29
1. Integração e Acompanhamento do Estagiário	29
2. Competências Adquiridas	30
3. Contacto com Procedimentos de Arbitragem.....	31
4. Plano Curricular do MICF.....	31
5. Assistência a Reuniões da Comissão de Avaliação de Medicamentos	32
6. Visita à Direção de Comprovação da Qualidade.....	32
B. Pontos Fracos	33
1. Duração do Estágio e Escassez de Formações.....	33
2. Autonomia Limitada	33
3. Foco Maioritário em Processos de Alterações.....	34
C. Oportunidades.....	34
1. Especialistas em Assuntos Regulamentares.....	34
2. Visão da Autoridade Regulamentar	35
D. Ameaças	35
1. Filiais e Consultoras	35
2. Escassez de Recursos Humanos	36
IV. Considerações Finais	37
V. Referências Bibliográficas	38

Parte III – Monografia

Index of Figures.....	40
List of Abbreviations	41
Abstract.....	43
Resumo	44
I. Introduction.....	45
II. Cardiovascular Diseases: A Global Cause of Death	46
III. The Clock Disruption as a Potentially Novel Risk Factor	47
IV. Circadian Clock System	48
A. Master Clock in the Suprachiasmatic Nucleus	48
B. Synchronization of Circadian Clock	49
C. The Circadian Clock in Tissues: Peripheral Clocks	50
I. The Cardiovascular Clock	50
D. Molecular Components of the Molecular Clock	51

V. From Disturbed Rhythm to Disease	53
A. Environmental Factors	54
B. Intrinsic Factors.....	55
VI. Time Treatment: Chronotherapy.....	58
A. Clinical Applications in Cardiovascular Disease.....	58
1. Anti-hypertensive medication	58
2. Aspirin	60
VII. Future Directions	61
VIII. Conclusion	63
IX. Bibliography	64

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Aliança

Porto

Lista de Abreviaturas

DCI	Denominação Comum Internacional
DT	Diretor Técnico
FA	Farmácia Aliança
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
MG	Medicamento Genérico
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamento Não Sujeito a Receita Médica
MSRM	Medicamento Sujeito a Receita Médica
PA	Pressão Arterial
PIM	Preparação Individualizada da Medicação
SGGQ	Sistema de Gestão e Garantia da Qualidade
SNS	Sistema Nacional de Saúde
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats</i>

I. Introdução

As Farmácias Comunitárias apresentam um estatuto único perante a população. Não só em relação à proximidade, devido à sua distribuição geográfica e aos horários praticados, como também, porque nelas encontram profissionais com uma elevada competência técnico-científica, essenciais para garantir os pilares preconizados no Serviço Nacional da Saúde (SNS): a acessibilidade ao medicamento e a equidade na prestação de cuidados de saúde de qualidade a todos os cidadãos¹.

Muito mais que ceder medicamentos, a atividade farmacêutica procura, cada vez mais, oferecer serviços diferenciados que contribuam para a saúde física, mental e social do utente, quer na vertente terapêutica, quer na vertente preventiva¹.

Ser farmacêutico comunitário é ser o primeiro contacto a quem o utente recorre quando existe um transtorno menor de saúde; É contribuir para a saúde com a indicação, o aconselhamento e o acompanhamento prestado; É ter impacto na promoção da adesão à terapêutica; É perconizar princípios do uso racional do medicamento, contribuir para a literacia em saúde e estimular estilos de vida mais saudáveis.

Após a formação teórica, diversificada e multidisciplinar, o percurso académico de um aluno da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) culmina com a última unidade curricular, o estágio em Farmácia Comunitária. Este é encarado como um desafio prático que, não só permite consolidar todo o conhecimento adquirido durante o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), como desenvolver outro tanto, culmatando possíveis lacunas nas competências técnicas, e interpessoais necessárias ao contexto real da profissão.

Desde o dia 7 de janeiro de 2019 até ao dia 30 de abril do mesmo ano, na Farmácia Aliança, na cidade do Porto, realizei o meu estágio sob a orientação do Dr. Carlos Cunha, enquanto Proprietário e Diretor Técnico (DT) da mesma.

Tendo como base todas as tarefas desempenhadas durante o referido período, assim como a integração da aprendizagem teórica na prática profissional e adequação do plano de estudos do MICF, redigi o presente documento de forma retrospectiva, seguindo um modelo de análise SWOT (*Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*), abordando os pontos fortes e pontos fracos inerentes ao processo da minha formação, oportunidades das quais beneficieei e ameaças sentidas durante o mesmo período.

II. Farmácia Aliança

A Farmácia Aliança (FA), fundada em 1909², é uma das farmácias mais antigas e emblemáticas da zona histórica da cidade do Porto. Desde 1984, encontra-se sobre a alçada do Dr. Carlos Cunha, atual proprietário e diretor técnico². É constituída por dois espaços adjacentes, no entanto, individualizados, no mesmo edifício: o espaço de ortopedia e puericultura e a farmácia propriamente dita.

Do Grupo FastFarma Farmácias Lda., onde se encontra inserida, fazem ainda parte espaços como a Farmácia de Santo António no concelho de Santa Maria da Feira e o Espaço Saúde Lionesa, uma parafarmácia localizada no Centro Empresarial da Lionesa em Leça do Balio, lugares que no âmbito do estágio curricular tive oportunidade de visitar.

III. Análise SWOT

A. Pontos Fortes

1. Formação da Equipa Técnica

A equipa técnica foi essencial e, por isso, um ponto forte, para o sucesso do estágio curricular e para o meu processo de aprendizagem. Desde o acolhimento inicial, à integração na equipa, sempre demonstraram disponibilidade e brilhantismo, não só a título profissional, como também a nível pessoal. Além disso, encontrei uma equipa técnica, que se rege pelo mesmo propósito: dedicação aos utentes!

Observar a prática quotidiana de Farmacêuticas exímias, reconhecidas pela Ordem dos Farmacêuticos como especialistas em Farmácia Comunitária, proporcionou-me um crescimento profissional no atendimento e aconselhamento personalizado, melhorando ainda a minha comunicação e o ajuste da linguagem técnica aos diferentes tipos de situação e de utentes. A crescer, são detentoras de formações complementares em várias áreas de crescente procura. Desde o domínio de áreas como Naturopatia e Fitoterapia, detêm ainda Pós-Graduações em Tricologia e Nutrição. Este domínio diversificado em várias áreas de atuação farmacêutica, permitiu que contactasse com vários aconselhamentos de componente científica aprofundada, que só foram possíveis pelo contacto com a equipa técnica certa.

2. Dinamização do Espaço Físico da Farmácia

Sendo o setor farmacêutico cada vez mais complexo e turbulento, é essencial acompanhar, não só a evolução das necessidades dos usuários da farmácia, como também o posicionamento

competitivo face à concorrência. Posto isto, apostar numa forte dinamização é diferenciador. Toda a organização do espaço físico e respetiva dinamização era adequada a um conceito que corrobora uma aposta da FA: manter uma imagem cuidada e profissional, acompanhada de uma renovação regular da disposição dos produtos e das próprias montras da farmácia.

Considero a forte dinamização do espaço como um ponto forte do meu estágio, por me ter permitido desenvolver competências práticas que tinham sido lecionadas em unidades curriculares do MICEF como Organização e Gestão Farmacêutica. Fui, em conjunto com as minhas colegas de estágio, responsável pela criação de lineares de destaque no início da primavera, tendo em conta os produtos mais procurados naquela época sazonal, bem como, das publicações que surgiam no ecrã *LED* que se sobrepunha a esse referido linear. Além disso, durante o período de estágio presenciei uma alteração do próprio mobiliário da farmácia, o que permitiu que reposicionasse todas as linhas de cosmética presentes na FA, o que contribuiu, não só para adquirir e consolidar valiosas noções na exposição dos produtos, mas principalmente para o contacto com todas as linhas disponíveis na farmácia.

Adicionalmente, e identificado um nicho de mercado claro, os turistas, tive ainda oportunidade de aplicar conhecimentos adquiridos na unidade curricular de Comunicação e *Marketing* Farmacêutico e contribuir para a construção de uma comunicação clara a este nicho de mercado: uma gôndula com produtos de interesse e de intensa procura, como produtos *Travel Size* e produtos *Gift Pack*.

3. Monitorização de Parâmetros Bioquímicos e Biofísicos

A prevenção da doença e das suas complicações passa pela identificação de fatores de risco e da referência atempada aos cuidados médicos especializados.

Como espaço de saúde, a FA oferece aos seus utentes a monitorização de vários parâmetros bioquímicos e biofísicos, os quais tive a oportunidade de acompanhar e executar durante o meu período de estágio. Poder desempenhar ações desta índole na farmácia, não só é gratificante, na medida em que permite que a população nos reconheça como prestadores de cuidados de saúde, como é um excelente modo de podermos monitorizar e aconselhar a adesão do utente à sua terapêutica.

Encaro este tópico com um ponto forte do meu estágio, por me ter confrontado com situações reais onde pude aplicar os meus conhecimentos relativamente à realização das medições e análise dos resultados. Além disso, possibilitou um contacto mais próximo com os utentes, fora da azáfama do balcão, onde esta interação mais tranquila permitiu esclarecer

dúvidas sobre as patologias e medicação instituída, e ainda a sensibilização para a adoção de hábitos e estilos de vida mais saudáveis.

4. Rastreio numa Residência Sénior

Como referido no ponto anterior, uma das experiências mais marcantes enquanto estagiária e futura farmacêutica, foi, sem dúvida, o contacto com o utente!

A FA desafiou-nos, enquanto estagiários, a preparar um dia diferente para os idosos de uma Residência Sénior: CliniCuidados, na Maia, onde a FA já é responsável pela entrega ao domicílio da medicação necessária para os utentes. O rastreio foi a propósito do Dia Mundial da Saúde, comemorado a 7 de abril. O intuito, era, não só proporcionar um dia diferentes aos utentes, como também rastrear e consciencializá-los de pequenas atitudes que podem adotar para potenciar a sua saúde. Nesse sentido, para além do rastreio a nível de parâmetros bioquímicos como a pressão arterial (PA), glicémia, colesterol total e ainda densitometria óssea, preparamos também um panfleto com dicas de saúde (Anexo I).

No entanto, o mais positivo e enriquecedor foi desenvolver a parte humana, fundamental enquanto farmacêutica: desenvolver a confiança num farmacêutico e compreender o quanto podemos contribuir para o bem-estar de alguém.

5. Plano Curricular do MICE no Atendimento ao Público

O MICE possui um plano de estudos diversificado e abrangente, com uma forte componente teórica, desenhado para formar profissionais versáteis e aptos para ingressar em qualquer área do mundo farmacêutico. No caso da Farmácia Comunitária, o atendimento ao público é a oportunidade de afirmarmos o papel enquanto prestadores de cuidados de saúde, porém é também a prova aos nossos conhecimentos, o que pela sua imprevisibilidade, provoca uma maior ansiedade e receio, enquanto estagiários. No entanto, a formação que adquirimos em muitas das unidades curriculares do MICE, como, Farmacologia, Fitoterapia e Indicação Farmacêutica auxilia-nos nesta tarefa e no aconselhamento farmacêutico, uma vez que oferecem a base teórica necessária para nos sentirmos mais confiantes. Contudo, devo ressaltar, que em áreas como a veterinária e afeções dermatológicas foi necessário recorrer a um total apoio e sabedoria da equipa técnica por serem Unidades Curriculares que não se encontram alinhadas com a realidade de um farmacêutico comunitário.

B. Pontos Fracos

1. Plano de Estágio Pouco Definido

Um aspeto menos positivo do meu estágio foi a ausência de um plano de estágio fixo, que estruturasse e orientasse a execução das minhas tarefas ao longo das semanas. Sempre fui alertada das múltiplas áreas de atuação da FA por parte do DT, porém, não ter essas áreas dispostas num plano, pode fazer com que o estagiário se sinta um pouco perdido e desencorajado. No entanto, deste ponto fraco, consegui retirar algo de positivo. Sem um plano de estágio definido, eu própria tive de ir em busca do conhecimento e demonstrar o meu interesse pelas várias áreas.

A parte inicial do estágio decorreu maioritariamente no *BackOffice*, onde assisti e auxiliei na receção encomendas e arrumação dos diversos produtos e na reposição de lineares, o que fez com que ganhasse as noções necessárias antes do atendimento ao público.

Após esta primeira etapa, e apesar de ainda diariamente realizar tarefas de *BackOffice*, a minha atividade centrou-se preferencialmente no atendimento ao público. Comecei por assistir ao atendimento de farmacêuticas experientes, onde tive a oportunidade de assimilar todos os procedimentos essenciais para um atendimento de qualidade, até o realizar de forma autónoma.

2. Espaço Designado para a Monitorização dos Parâmetros Exíguo

Como referido anteriormente, a monitorização dos parâmetros bioquímicos e biofísicos foi das tarefas mais compensatórias enquanto futura farmacêutica. Porém, o espaço designado para a monitorização dos mesmos, na FA, é exíguo e por vezes, pouco privado. Frequentemente, aquando da determinação, ou da conversa com o utente, era necessária a passagem de colaboradores, que, embora, não fosse um incómodo, quebrava um pouco a fluidez da conversa, fazendo com que, muitas vezes, o utente se sentisse constrangido, limitando as minhas intervenções. Por outro lado, e dado que a monitorização da PA era realizada com recurso a um esfigmomanómetro e um estetoscópio, o facto de o espaço ser pouco privado fazia com que, por vezes, o ruído que se produzia na zona de atendimento afetasse a minha capacidade de determinação, sendo necessário repetir várias vezes a mesma, o que poderia ser interpretado como alguma inexperiência da minha parte.

3. Escassa Preparação de Medicamentos Manipulados

É um facto que os avanços científicos no ramo da tecnologia farmacêutica convergem na criação de novas fórmulas farmacêuticas, o que, diminui a atual procura e preparação de medicamentos manipulados. No entanto, para casos de ajuste posológico em formulações de uso pediátrico, preparações não existentes no mercado ou patologias que requeiram uma terapêutica personalizada, a preparação de medicamentos manipulados continua a ser uma realidade.

Apesar da FA possuir instalações e equipamentos adequados, esta não prepara medicamentos manipulados regularmente, o que foi limitador no conhecimento que adquiri nesta vertente. Contudo permitiu-me contactar com a preparação de uma Solução de Lugol a 5%, com o preenchimento da devida ficha de preparação de medicamentos manipulados e ainda com o cálculo do preço do mesmo.

C. Oportunidades

1. Localização e Horário de Funcionamento Alargado

A FA localiza-se junto ao Largo Mompilher, na baixa da cidade do Porto. Encontra-se, por isso, inserida num local geográfico vantajoso, servida pelos vários transportes públicos, permitindo um fácil acesso tanto à população em geral, como a utentes provenientes do Hospital de Santo António. Para além da localização estratégica, a FA tem um horário de funcionamento alargado, das 8:30h às 22:00h de segunda-feira a sábados.

Estes dois fatores determinaram a heterogeneidade de clientes da farmácia e permitiram-me contactar com um espectro alargado de utentes, diversidade de faixas etárias e estratos socioeconómicos, associados a quadros clínicos distintos.

Devido à afluência da população que habita aquela zona, são vários os clientes fidelizados, muitos deles com idades avançadas e com uma terapêutica instituída bastante complexa. Por outro lado, o centro da cidade como ponto turístico permite que a FA receba muitos visitantes, de várias nacionalidades.

Pode então considerar-se que a FA funciona como uma farmácia de passagem: para os vários turistas de múltiplas nacionalidades que visitam a cidade do Porto, bem como uma farmácia local: para os utentes habituais e fidelizados da zona da baixa.

Desta forma, a heterogeneidade do público-alvo da FA obrigou-me a ser mais flexível no atendimento ao balcão, tendo de me adaptar, rapidamente, às diferentes realidades que iam surgindo. Com os turistas tive a oportunidade de aconselhar mais produtos sazonais e testar técnicas de *Cross-selling* e *Up-selling*. Já com os clientes fidelizados tive a oportunidade de

contactar com a ficha do utente e ajudar relativamente à medicação e acompanhando ao longo da sua terapêutica.

2. Diversidade de Produtos

A FA não é uma farmácia caracterizada pela sua grande dimensão, no entanto, o sortido de produtos que apresenta é amplo e variado e pensado de forma a satisfazer os utentes. Para além dos medicamentos sujeitos (MSRM) e não sujeitos a receita médica (MNSRM), esta apresenta uma vasta gama de dispositivos médicos e de produtos de dermocosmética, veterinária, fitoterapia, suplementação alimentar e nutrição desportiva.

A diversidade de produtos tornou-se uma oportunidade, na medida em que o contacto com as características, vantagens e desvantagens de todas estas categorias de produtos, fez com que adquirisse uma vasta e diversificada bagagem abrangente a todas estas áreas. Além disso, complementou as bases teóricas adquiridas durante o meu percurso académico, bem como acrescentou novos produtos ou temáticas que não foram tão abordadas no plano de estudos do MICEF.

A acrescentar ao exposto, devo salientar ainda a oportunidade de ter a loja de Ortopedia e Puericultura num um espaço distinto da farmácia, que colmatou a lacuna no aconselhamento ortopédico uma vez que presenciei ainda alguns aconselhamentos na área.

3. Sistema de Gestão da Garantia da Qualidade

Em busca de uma maior diferenciação, inovação e qualidade, a FA propôs-se a certificar a Farmácia utilizando a norma NP EN ISO 9001³, de forma a implementar um Sistema de Gestão da Garantia da Qualidade (SGGQ)³. O objetivo seria aumentar a satisfação das necessidades e expectativas dos clientes, através de um sistema de gestão que melhora o desempenho global. Para essa certificação é necessário demonstrar o rigoroso cumprimento de diversos procedimentos e normas técnicas, que visam essencialmente monitorizar e aperfeiçoar os procedimentos internos e promover a formação dos seus colaboradores³.

Tive a oportunidade de participar na normalização dos procedimentos e dos processos internos, bem como na elaboração dos recursos necessários para evidenciar a Qualidade na Farmácia. Este contacto com a parte mais burocrática, não só me permitiu conhecer o conceito de SGGQ, como também os procedimentos da farmácia, com os quais criei uma base teórica de todos os passos necessários para executar uma determinada tarefa.

No final o resultado não podia ter sido mais recompensador uma vez que a farmácia obteve o certificado de qualidade.

4. Serviços de Preparação Individualizada da Medicação em Residências Sénior

A atividade central do farmacêutico, e aquela na qual a sua preparação académica lhe aporta certamente uma maior diferenciação face aos restantes profissionais de saúde, sempre foi, continua a ser e será a área do medicamento. Neste sentido e fortalecendo uma imagem inovadora e personalizada, a FA tem um farmacêutico designado à Preparação Individualizada da Medicação (PIM) na Residência Sénior: Carlton Life Júlio Dinis na Boavista. Sendo uma residência sénior, a maioria representa uma população mais envelhecida, polimedicada, com doenças crónicas e complicações associadas, onde a preparação unidose se torna crucial não só no momento da toma, como também na gestão e otimização da terapêutica.

Destaco o serviço PIM como um serviço de elevada complexidade e, assim, como uma oportunidade única que me foi proporcionada, não só pelo contacto com as normas de PIM, com máquinas de embalamento unidose utilizadas em ambiente hospitalar, mas também, pela oportunidade de pôr em prática conhecimentos adquiridos no que toca à revisão da medicação de cada utente, bem como de reconciliação da terapêutica.

5. Componente Financeira e de Gestão

Como complemento da sua formação técnica e científica, o farmacêutico comunitário deve desenvolver competências essenciais ao trabalho abrangente que desenvolve no ambiente de uma farmácia de oficina. Algumas destas competências dizem respeito à gestão da farmácia, em grande e pequena escala, que se apresenta como parte fundamental, não só do seu funcionamento, como da sua garantia económica.

Durante o estágio tive a oportunidade de contactar com a forte gestão aplicada na FA, bem como de alguns conceitos e princípios básicos da área. Para além disso, permitiu o contacto com vocabulário técnico da área e noções quotidianas essenciais para o sucesso da gestão, como o custo de mercadoria e cálculo de margens.

6. Contacto com o Conceito: Homeopatia

Atualmente, as terapêuticas não convencionais têm vindo a ganhar cada vez mais popularidade, nomeadamente a homeopatia. Apesar da controvérsia, torna-se importante que os farmacêuticos adquiram conhecimento sobre estas alternativas de forma a estarem aptos para corresponder às questões impostas pelos utentes.

A FA para além de apresentar uma diversidade de medicamentos homeopáticos, é detentora de um Laboratório Certificado, onde são preparadas fórmulas homeopáticas.

Uma vez que não tinha conhecimento sobre esta temática, o contacto com este tipo de medicamentos, bem como com a sua preparação acrescentou valor ao meu estágio curricular. Para além disto, o conhecimento adquirido sobre este tipo de medicamentos permitiu-me, durante o atendimento ao balcão, conhecer muitos dos produtos que eram solicitados e fornecer as respetivas recomendações de cuidados particulares aquando da toma dos mesmos.

D. Ameaças

I. Medicamentos Esgotados

Os medicamentos em Portugal têm preços muito inferiores a outros países europeus, daí a realidade dos medicamentos esgotados ser cada vez mais frequente, devido à legalidade da exportação paralela⁴.

O carácter crónico da toma de certos medicamentos aliado à falta constante destes em stock, provocava ansiedade e preocupação nos utentes e, conseqüentemente, em toda a equipa técnica. Foram várias as ocasiões em que fui confrontada com o desagrado e frustração dos utentes, perante a impossibilidade de lhes ceder os medicamentos prescritos, por se encontrarem esgotados.

Logicamente que este tópico se assumiu como uma ameaça ao meu estágio, sobretudo no ato da dispensa, por me impedir de satisfazer as necessidades dos utentes e por colocar em causa cuidados de saúde e a qualidade de vida de todos os portugueses.

2. Indicação Relativa do Preço Máximo a Pagar em Receitas Eletrónicas

A prescrição por Denominação Comum Internacional (DCI) nas receitas permite ao utente fazer uso do seu livre arbítrio na escolha do seu medicamento de preferência, seja este de referência ou medicamento genérico (MG), tendo em conta os encargos financeiros do mesmo. Para isso, para cada linha de prescrição, possui uma indicação relativa do preço máximo a pagar pelo MG mais barato.

Considero esta referência relativa ao preço máximo a pagar pelos medicamentos nas receitas eletrónicas uma ameaça ao meu estágio curricular, na medida em que, frequentemente o preço do genérico que cedia não correspondia exatamente ao preço indicado na receita, ou por vezes, a terapêutica que o utente já realizava há vários anos nem correspondia a um MG, mas sim com ao medicamento de referência. Isto suscitava várias questões por parte dos utentes o que causava alguma confusão e dúvida no atendimento.

3. Sistema de Comparticipações

O sistema de comparticipações diz respeito a uma comparticipação do Estado Português, nomeadamente do SNS, no custo dos medicamentos para todos os cidadãos portugueses⁵. Este sistema está dividido em escalões, que variam de acordo com as indicações terapêuticas do medicamento, a sua utilização, as entidades que o prescrevem e ainda o consumo acrescido para doentes que sofram de determinadas patologias⁵. Além disso, existe a possibilidade de uma comparticipação acessória de entidades empresariais ou estatais⁵.

Esta é uma temática desafiante para quem tem pouca experiência, como um estagiário, pois cada entidade de comparticipação requer um protocolo diferente de validação da dispensa de medicamentos.

Foram várias as vezes que necessitei de reiniciar algumas das vendas, atrasando o atendimento. Além disso, a constante mudança nas percentagens de comparticipação e da perda de comparticipação de alguns medicamentos foi também um aspeto que considero como uma ameaça, na medida em que, frequentemente necessitei do apoio da equipa técnica para esclarecer o porquê da diferença de preço a pagar, o que limitou a minha autonomia.

IV. Integração da Aprendizagem Teórica na Prática Profissional

Enquanto futuros profissionais de saúde é essencial dominar todos os conceitos dos produtos que cedemos, além das medidas não farmacológicas, para assim garantir o melhor aconselhamento possível.

Apresento, neste relatório, dois exemplos de casos reais, que espelham a importância do aconselhamento farmacêutico que prestei aliando o conhecimento adquirido no MICF, com o conhecimento que a equipa técnica foi partilhando comigo ao longo dos meses.

Caso 1 – Sintomas de Infecção Urinária

Uma jovem de aproximadamente 20 anos apresenta-se na farmácia com sintomatologia indicativa de uma infecção urinária. A utente revela que as infeções são recorrentes e que teria acabado de recuperar de uma, com toma de antibiótico.

Queixava-se de vontade frequente e urgente em urinar, assim com um ligeiro ardor aquando da micção e solicitou algo natural para aliviar a sintomatologia e evitar uma nova infeção, uma vez que estava esgotada de recorrer a antibiótico.

Aconselhei um suplemento alimentar Cis-Control[®] Expert, contendo Arando (*Vaccinium macrocarpon* Ait.), Urze (*Calluna vulgaris*) e D-Manose, que ajuda a manter o funcionamento normal do aparelho urinário e a prevenir infeções urinárias⁶. O principal mecanismo de ação do arando consiste em inibir a adesão e a consequente formação de biofilmes pela bactéria intestinal *Escherichia coli* no epitélio urinário, o que impede a génese da infeção⁷, a Urze é antissética e diurética⁸. Assim, aconselhei a posologia recomendada: 1 saqueta de manhã e 1 saqueta à noite diluída num copo de água (200 ml) durante 7 dias⁶.

A somar, decidi reforçar as medidas não farmacológicas e alertar a utente de que o produto poderia não ser suficiente no caso de ser uma infeção já instalada. Reforcei que, caso a sintomatologia permanecesse ou piorasse, deveria consultar novamente um médico.

Caso 2 – Acne

Mulher com cerca de 30 anos desloca-se à farmácia com uma prescrição de isotretinoína. Uma vez que se tratava de uma jovem em idade fértil, comecei por advertir para a necessidade da contraceção, visto que a isotretinoína é teratogénica e provoca malformações graves no feto, sendo obrigatório que não exista uma gravidez durante o tratamento e por segurança até um mês após a cessação da toma⁹. Elucidei que a principal ação desta substância ativa seria na redução a atividade das glândulas sebáceas, e, por isso, ajudaria a tratar a acne, porém um dos efeitos secundários mais comuns deste medicamento seria a secura da pele e mucosas,

bem como a fotosensibilidade⁹. Com isto, aponte a limpeza diária da pele com um gel de limpeza como um cuidado essencial para o sucesso do tratamento. Além disso, indique também o *ISOKIT* da gama *Sébiu*m da Bioderma[®], constituído por um creme hidratante, especialmente indicado para peles acneicas temporariamente ressequidas e irritadas por tratamentos dermatológicos, com propriedades hidratantes, anti-inflamatórias e calmantes, e por um stick labial¹⁰. Por fim, expliquei que tão ou mais importante que hidratar a pele, seria a aplicação de um protetor solar, aconselhando um que para além de conferir uma proteção 50+, controla o excesso de brilho e sebo exercendo um efeito matificante.

Durante a conversa, reforcei também as medidas não farmacológicas como a ingestão de água, e que a maquilhagem escolhida requeria uma atenção especial de forma a ser não-comedogénica e não oleosa.

V. Considerações Finais

Como profissionais de saúde, ativos e voltados para o bem-estar da população, não foi com surpresa que reconheci as inúmeras funções desempenhadas por um farmacêutico comunitário, não me referindo apenas à quantidade, mas também ao valor e ao impacto na sociedade. Consequentemente, a intervenção profissional do farmacêutico possui um elevado grau de responsabilidade e ética em exercer a profissão com a maior competência, zelo e independência.

Esta farmácia expôs o verdadeiro ritmo de trabalho da prática profissional, fornecendo uma preparação inigualável. Mais que qualquer outra unidade curricular, considero este estágio como uma das melhores ferramentas de ensino prático onde crescemos profissionalmente e desenvolvemos os valores necessários para que nos tornemos Farmacêuticos dignos, responsáveis e competentes.

Para terminar, realço o caráter indispensável da formação contínua, do rigor científico no ato do aconselhamento e das relações interpessoais essenciais para a relação utente-farmacêutico.

Por fim, resta-me agradecer à Farmácia Aliança e a toda a sua equipa técnica pelo acompanhamento diário, valores transmitidos, disponibilidade e amizade que tornaram esta experiência enriquecedora.

VI. Referências Bibliográficas

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - A Farmácia Comunitária. [Consultado a 20 de janeiro de 2019] Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. GRUPO FASTFARMA - Farmácia Aliança. [Consultado a 02 de fevereiro de 2019]. Disponível na Internet: http://www.farmacia-alianca.com/?page_id=33
3. APCER – ISO 9001. [Consultado a 30 de março de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.apcergroup.com/pt/certificacao/pesquisa-de-normas/81/iso-9001>
4. SILVEIRA, J. - A verdade sobre os medicamentos “esgotados”. Público, 51453 (2012), 52.
5. SNS - Medicamentos. [Consultado a 16 de março de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.sns.gov.pt/sns-saude-mais/medicamentos-2/>
6. ARKOPHARMA LABORATORIES - Cis-Control® Expert. [Consultado a 1 de maio de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.arkopharma.com/pt-PT/cis-controlr-expert>
7. GUAY, D. R. P. - Cranberry and Urinary Tract Infections. Drugs. 69 (2009) 775-807.
8. FARMÁCIA ARADE - Arkocápsulas Urze 50 cápsulas. [Consultado a 1 de maio de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.farmaciarade.pt/produto/arkocapsulas-urze-50-capsulas/>
9. INFARMED, I.P. - Resumo das Características do Medicamento Isotretinoína Aurovitas 10 mg, Cápsulas moles. [Consultado a 25 de abril de 2019] Disponível na Internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=33899&tipo_doc=rcm
10. FARMÁCIAS PORTUGUESAS - Sébium ISOKIT. [Consultado a 25 de abril de 2019] Disponível na Internet: <https://www.farmaciasportuguesas.pt/catalogo/index.php/catalog/product/view/id/443276/s/sebium-isokit/category/333/>

VII. Anexo

Anexo I

Folheto preparado para sensibilização dos utentes da Residência Sênior



Parte II

**Relatório de Estágio em Assuntos Regulamentares
INFARMED- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos
de Saúde, I.P
Lisboa**

Lista de Abreviaturas

AIM	Autorização para Introdução no Mercado
CAM	Comissão de Avaliação de Medicamentos
CFT	Classificação Farmacoterapêutica
CHMP	The Committee for Medicinal Products for Human Use
CMDh	Co-ordination Group for Mutual Recognition and Decentralised Procedures-Human
CTS	Communication and Tracking System
DAM	Direção de Avaliação de Medicamentos
eCTD	Electronic Common Technical Document
EDQM	European Directorate for Quality of Medicines and Healthcare
EMA	European Medicines Agency
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
INFARMED, I.P.	Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P.
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
NP-ALT	Alterações aos termos de AIM por Procedimento Nacional
OMCL	Official Medicines Control Laboratories
SARTANS	Antagonistas dos Recetores da Angiotensina II
SMUH-Alter	Plataforma de Submissão de Pedidos de Alteração do Sistema de Gestão de Medicamentos de Uso Humano
SWOT	Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats
TAIM	Titular da Autorização de Introdução no Mercado
UMM	Unidade de Manutenção no Mercado

I. Introdução

A Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), destacando-se de outras Faculdades de Farmácia do País, proporciona aos seus discentes a possibilidade de realizarem um segundo estágio curricular, não só a nível hospitalar, como em novas saídas profissionais.

O percurso académico permitiu o primeiro contacto com a área dos Assuntos Regulamentares e contribuiu para o reconhecimento da relevância desta área ao nível do Mercado Farmacêutico Global. Além disso, permitiu identificar as várias etapas do ciclo do medicamento onde a área regulamentar é fundamental e, com isso, a multiplicidade de conceitos que esta envolve: desde legislativos, regulamentares, bem como técnico-científicos.

O INFARMED- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P., além do reconhecimento como instituto de excelência, é o expoente máximo da área regulamentar em Portugal e, por isso, o melhor local para contactar com a realidade profissional.

O estágio teve início a 7 de maio de 2019 e findou a 31 de julho do mesmo ano, sob orientação da Dra. Dina Lopes. Tendo como base todas as tarefas desempenhadas, assim como a integração da aprendizagem teórica na prática profissional e adequação do plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), redigi o presente documento de forma retrospectiva, seguindo um modelo de análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), abordando os pontos fortes e pontos fracos inerentes ao processo da minha formação, oportunidades das quais beneficiei e ameaças sentidas durante o mesmo período.

II. INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

O INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P., de ora avante designado por Infarmed, encontra-se sediado no Parque de Saúde de Lisboa. É integrado na administração indireta do Estado Português, sob tutela do Ministro da Saúde, tendo, no entanto, património próprio e autonomia administrativa e financeira¹. Atua, principalmente, na regulação e supervisão dos setores respeitantes aos medicamentos, e produtos de saúde, garantindo a sua qualidade, eficácia e segurança¹.

Devido à sua vasta área de atuação, o Infarmed divide-se em cinco Órgãos e em treze Unidades Orgânicas, subdivididas consoante as funções desempenhadas: suporte ou negócio, como representa a Figura I.

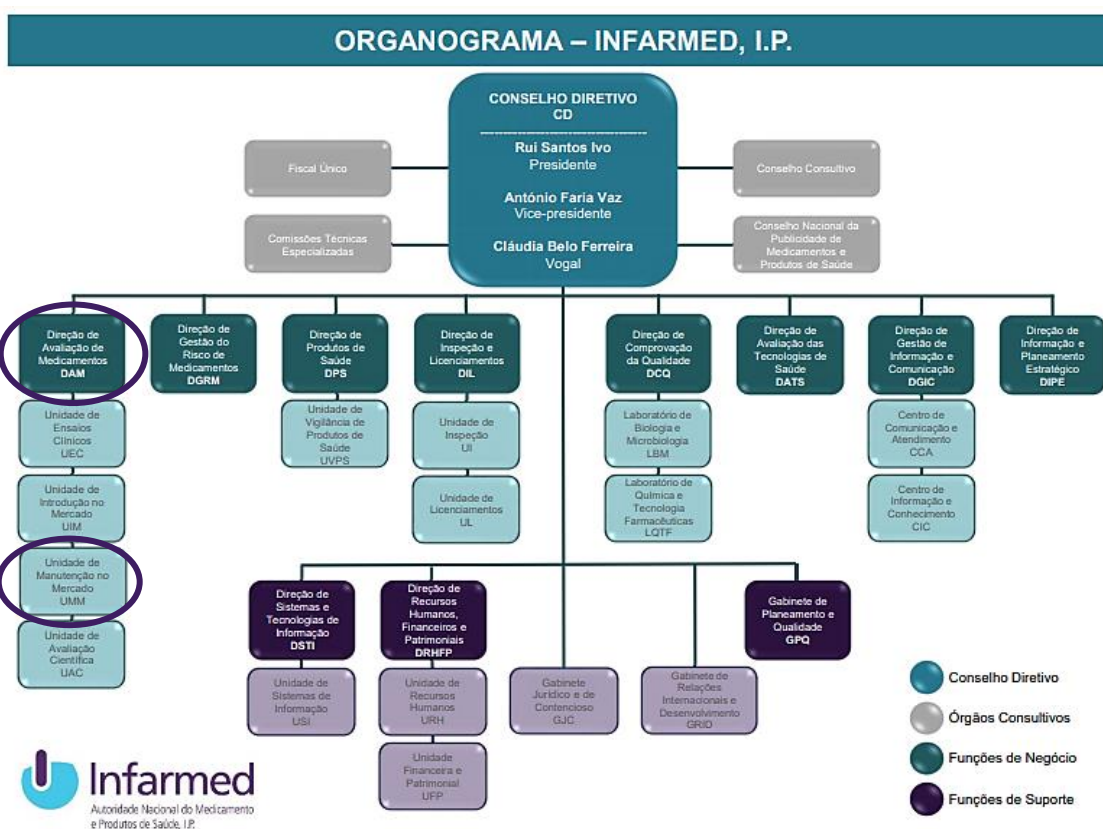


Figura I - Organograma do Infarmed. Assinalado com um círculo a Direção e Unidade onde foi integrada. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/1269448/Organograma+2019/c8343cd0-df7f-490c-84ef-15db7d43dfc2>. [Acedido a 30 de junho de 2019].

II.1. Direção de Avaliação de Medicamentos

A Direção de Avaliação de Medicamentos (DAM) está incluída na lista das unidades orgânicas com funções de negócio e é constituída por quatro unidades: Unidade de Ensaios Clínicos, Unidade de Introdução no Mercado, a Unidade de Avaliação Científica e a Unidade de Manutenção de Mercado.

II.1.1. Unidade de Manutenção no Mercado

A Unidade de Manutenção no Mercado (UMM), sumariamente, atua na fase posterior à concessão de Autorização para Introdução no Mercado (AIM), assegurando as atividades necessárias à manutenção no mercado de medicamentos. Dessas atividades pode enumerar-se autorização de alterações, renovações, ou ainda revogação da AIM².

Dentro da UMM existem ainda equipas formadas consoante, quer o tipo de procedimento, quer a posição que Portugal ocupa enquanto Estado Membro Europeu.

A equipa onde fui integrada é responsável pela gestão dos pedidos de alteração aos termos de AIM por Procedimento Nacional (NP-ALT).

III. Análise SWOT

A. Pontos Fortes

I. Integração e Acompanhamento do Estagiário

Todos os estagiários foram recebidos com um Manual de Acolhimento acompanhado de uma formação inicial, ministrada por um membro da Direção de Recursos Humanos Financeiros e Patrimoniais. Nessa formação fomos introduzidos não só à organização estrutural e funcional do Instituto, como às normas e boas práticas vigentes, e ainda, a documentos institucionais relevantes.

De seguida, todos os estagiários da DAM receberam uma formação geral ministrada pela Dra. Dina Lopes, na qual foi apresentado o contexto regulamentar onde se encontra inserido Portugal e uma visão geral sobre a respetiva direção. Posteriormente, fomos distribuídos pelas unidades de atuação da DAM. No meu caso, fui integrada na equipa **NP-ALT**, na DAM-UMM, tendo como orientadora a Dra. Leonor Chambel. Porém, antes de iniciar propriamente funções, assisti a uma nova formação, conduzida pelo Dr. Carlos Mendes, onde nos foram lembrados e introduzidos conceitos, agora focados no procedimento de alterações aos termos de AIM, e ainda, às várias plataformas informáticas utilizadas como ferramentas de trabalho no Instituto, mais propriamente na NP-ALT.

Aquando início de funções, foi-nos disponibilizado, pelo Infarmed, não só material informático, como também, acesso às plataformas informáticas, que se revelaram fulcrais para o sucesso enquanto gestora de alterações de AIM. Acrescento ainda o acesso a um endereço de email interno, que permitia um seguimento dos contactos estabelecidos com os Titulares de AIM (TAIM) a partir do *proxy* geral das alterações designado de “Subalt”.

Toda esta contextualização e permissão de acesso às plataformas foi essencial não só para a nossa integração inicial no Instituto, como para compreender o propósito das tarefas às quais seríamos designados. Além disso, considero também como ponto forte, ter sido designado um gestor para cada estagiário, pois possibilitou um acompanhamento personalizado, com um maior nível de interação que resultou numa melhor aprendizagem.

2. Competências Adquiridas

Como já referi, exerci a função de gestora de processos de pedidos de alterações aos termos de AIM. Os processos geridos foram maioritariamente de Qualidade Farmacêutica, que incluíam alterações dos 3 tipos: IA, IB e II. O dia a dia nesta posição permitiu-me desenvolver competências, que acredito serem, diferenciadoras aquando da entrada no mercado de trabalho, uma vez que as alterações aos termos de AIM representam a generalidade dos processos Pós-AIM.

Uma das competências a destacar, foi a destreza ganha na consulta e operacionalização de softwares como o SMUH-Alter (plataforma de submissão de pedidos de alteração do sistema de gestão de medicamentos de uso humano). Esta plataforma eletrónica é utilizada para submissão de pedidos de alterações aos termos de AIM pelos seus titulares, estabelecendo a ponte entre estes e a entidade regulamentar e reúne o registo completo de todo o processo de um determinado pedido de alteração. Pela necessidade de uso diário, conhecer as suas funções e dominar a sua utilização é um ponto fundamental, tanto do ponto de vista do Instituto, como da Indústria Farmacêutica.

Além do contacto com a plataforma, realço o desenvolvimento da minha interpretação, sentido crítico e visão farmacêutica. A gestão de pedidos de alterações é um processo complexo, que requer uma análise atenta por parte de um profissional competente. Fui várias vezes confrontada com erros nas submissões realizadas por parte dos titulares: quer pela errada classificação ou tipificação da alteração, quer pela omissão de pedidos de alterações, quer pelo mau preenchimento da documentação essencial, sendo necessário pedir esclarecimentos aos TAIM recorrentemente, através de um/vários pedido(s) de elementos, o que prolonga o tempo de avaliação e finalização do processo. Assim, o contacto estrito com estes erros frequentes, assim como com a legislação e normas orientadoras necessárias

permitiu que eu adquirisse competências de extrema importância para um futuro profissional na área regulamentar, quer ao nível de autoridades regulamentares, quer ao nível da indústria farmacêutica.

Destaco ainda a análise da documentação de suporte para a validação e avaliação do pedido de alteração, nomeadamente os vários módulos do eCTD (*Electronic Common Technical Document*). Como parte da minha função passava pela análise criteriosa da informação constante em cada secção de cada módulo, uma das competências adquiridas foi também a noção da distribuição efetiva da informação, que poderá ser valiosa num futuro na área, tanto na construção do eCTD, como na sua análise para submissões de pedidos de alterações.

3. Contacto com Procedimentos de Arbitragem

No início de 2019, a *European Medicines Agency* (EMA), através do *The Committee for Medicinal Products for Human Use* (CHMP) emitiu um parecer onde as conclusões científicas espelhavam a preocupação da presença de N-Nitrosaminas acerca do grupo de medicamentos antagonistas dos recetores da angiotensina II (*sartans*)³. Assim, e ao abrigo do artigo 31º da Diretiva 2001/83/CE, a Comissão Europeia emitiu uma decisão vinculativa a todos os Estados Membros, estabelecendo a alteração dos termos das AIMs de todos os medicamentos que contêm “*sartans*”. Sendo necessária a submissão de vários tipos de pedidos de alteração, registou-se uma afluência de submissões, muitas das quais foram distribuídas por nós estagiários.

Considero este Procedimento de Arbitragem um ponto forte do meu estágio, em primeiro lugar, pela noção de arbitragem e do contexto regulamentar envolvente, assim como documentação tipo aplicada a estes procedimentos como Diretivas da Comissão Europeia e *Press Release*, emitidos pelo *Co-ordination Group for Mutual Recognition and Decentralised Procedures-Human* (CMDh). E em segundo lugar, por ter permitido uma gestão autónoma dos processos, o que incluía a liberdade de realizar os pedidos de elementos necessários aos TAIM, e ainda gerir a plataforma SMUH-Alter. A somar, contactei com mais uma das equipas presentes na DAM.

Além da implementação da decisão da arbitragem a nível de Procedimentos Nacionais, participamos também na implementação onde Portugal era Estado Membro de Referência. Assim permitiu desenvolver o inglês técnico aquando da comunicação com o TAIM, e ainda utilizar a plataforma CTS (*Communication and Tracking System*), disponível a nível europeu, onde atualizei informações acerca do processo para consulta dos Estados Membros Envolvidos.

4. Plano curricular do MICF

A FFUC é a única Faculdade de Farmácia do país que inclui Assuntos Regulamentares como unidade curricular obrigatória no plano de estudos do MICF. Esta unidade curricular proporciona a introdução ao contexto regulamentar a nível europeu, aos termos técnicos e conceitos básicos da área.

Em adição, e reconhecendo cada vez mais a área regulamentar como uma saída profissional para os seus alunos, a FFUC incluiu ainda no seu plano de estudos, uma unidade curricular opcional no 5º ano do MICF, designada como Gestão de Processos Regulamentares.

Nesta opcional muito mais que a teoria, foi possível a aplicação prática de muitas noções adquiridas, bem como novos conceitos. Além de sermos introduzidos a boas práticas que devem ser implementadas para o sucesso como gestor de processos regulamentares, contactamos com exercícios práticos que nos fizeram enfrentar um contexto real. Para isso, consultámos documentação de suporte, como *guidelines* e sobretudo, assimilámos onde se encontra informação indispensável no contexto da gestão dos processos regulamentares.

Uma das *guidelines* com as quais já tinha contacto incluía o documento designado “Regulamento (CE) nº1234/2008- Comissão Europeia: Orientações sobre os pormenores das diversas categorias de alteração”, instrumento de trabalho diário neste período de estágio enquanto gestora de processos de pedidos de alterações.

Face ao exposto, classifico o plano curricular do MICF, mais concretamente as duas unidades curriculares referidas, como um ponto forte pelo confronto com a prática profissional, termos técnicos e *guidelines*, que permitiram o sucesso no meu estágio curricular, e me diferenciam numa possível posição nos Assuntos Regulamentares.

5. Assistência a Reuniões da Comissão de Avaliação de Medicamentos

A Comissão de Avaliação de Medicamentos (CAM) é parte integrante do órgão consultivo: Comissões Técnicas Especializadas. Esta, constituída por peritos Farmacêuticos, Médicos e Toxicológicos, reúne-se em dois momentos de cada mês, onde, genericamente, se discute e aprova pareceres emitidos para questões relacionadas com medicamentos, sobretudo no domínio da avaliação da qualidade, eficácia e segurança⁴.

A presença em Reuniões da CAM foi concedida a todos os estagiários do Infarmed por duas ocasiões. Esta presença permitiu compreender o funcionamento destas reuniões, assim como, assistir à discussão científica de decisões discordantes de pareceres cujos alguns processos estivemos envolvidos enquanto estagiários.

6. Visita à Direção de Comprovação da Qualidade

A Direção de Comprovação da Qualidade comporta duas subunidades: O laboratório de Biologia e Microbiologia, responsável por medicamentos biológicos e biotecnológicos e o Laboratório de Química e Tecnologia Farmacêutica, onde se analisam medicamentos de síntese química⁵. Além disso, o laboratório analisa medicamentos que apresentem suspeita de adulteração, bem como cosméticos e dispositivos médicos.

Como estagiários, foi-nos possível visitar o Laboratório Europeu de Referência do INFARMED, I.P. Este laboratório é membro do Official Medicines Control Laboratories (OMCL), coordenada pela European Directorate for Quality of Medicines and Healthcare (EDQM). Além disso, integra também a rede de laboratórios qualificados da Organização Mundial de Saúde o que corrobora o reconhecimento da competência técnica do laboratório⁶. Considero a introdução a esta vertente do instituto como um ponto forte, não só a nível profissional, como a nível pessoal, não só pela elucidação das atividades desenvolvidas, as várias técnicas e equipamentos utilizados, como também pelo reconhecimento da importância internacional e nacional desta rede, da qual o Infarmed faz parte, permitindo a partilha de conhecimentos, recursos e resultados, entre as várias autoridades competentes nacionais.

B. Pontos Fracos

1. Duração do Estágio e Escassez de Formações

Devido à complexidade da gestão de processos, a duração do estágio é um ponto fraco a destacar. Este fator não deixa margem temporal para completar a finalização de alguns processos, principalmente pela existência de vários tempos de espera entre trocas de pedidos e respostas de elementos e avaliação das alterações. Considero este um ponto fraco, principalmente por gerar acumulação de processos em fase de resolução registando-se assim trabalho que fica pendente e que dificultará a análise feita por um segundo gestor.

Além da duração, durante o referido período apenas frequentámos as formações iniciais de contextualização. Assim, destaco também a escassez de formações como um ponto fraco, uma vez que limitou o conhecimento adquirido ao longo do período de estágio bem como o crescimento e a especialização profissional.

2. Autonomia Limitada

A autonomia é uma aptidão imprescindível num futuro profissional de saúde. Quando se trata da área de assuntos regulamentares, o profissional encontra-se anos em fase de aprendizagem, sendo que apenas no fim desse período se encontra capacitado para

desenvolver as suas funções de forma eficaz e autónoma. Assim, a autonomia aquando da realização das atividades foi um fator limitante, pois fora necessário prolongar a gestão de vários processos a fim de esclarecer questões e de saber quais os passos a seguir em cada situação, quer por falta de experiência profissional, quer por falta de conhecimento dos procedimentos internos do Instituto.

No entanto, após a análise do processo com a orientadora responsável pela minha supervisão, o maior ponto fraco, foi a impossibilidade, enquanto estagiária, de enviar mails do *proxy* “Subalt”. Visto que as comunicações com os TAIM devem ser realizadas pelo *proxy*, e dada a minha impossibilidade de acesso, encontrava-me sempre dependente da disponibilidade de quem me orientava, o que limitava as minhas funções e me impedia de avançar com a validação do processo.

3. Foco Maioritário em Processos de Alterações

Sendo a atividade da área regulamentar marcada nas várias fases do ciclo do medicamento, desde a fase pré-AIM: registo e acesso ao mercado, até à fase pós-AIM: garantia de manutenção de mercado, existem múltiplas tarefas atribuídas aos gestores regulamentares.

O foco único na gestão de processos de alterações aos termos de AIM, em procedimentos nacionais, acabou por se tornar, na minha opinião, um ponto fraco do meu estágio. Se por um lado oferece experiência e especialização, por outro limita o conhecimento e não permite uma visão alargada das tarefas atribuídas a um gestor regulamentar.

A aposta num estágio com passagem por outro departamento na mesma direção, nomeadamente na fase pré-AIM, permitiria o contacto com outras realidades profissionais recorrentes e quotidianas, como são os pedidos de AIM.

Entendo que devido ao número elevado de estagiários acolhidos, e ao facto de uma entidade com tantas responsabilidades e prazos para cumprir, como o INFARMED, I.P., a disponibilidade para redistribuir os estagiários esteja diminuída, no entanto iria potenciar a dinâmica do estágio e assim um maior entusiasmo por parte do estagiário.

C. Oportunidades

I. Especialistas em Assuntos Regulamentares

Como já referi, a minha orientação ficou a carga da Dra. Leonor Chambel, farmacêutica, especializada em Assuntos Regulamentares do Medicamento e gestora de processos pós-AIM, responsável por vários medicamentos agrupados por Classificação Farmacoterapêutica (CFT).

Ter a oportunidade de contactar ao longo deste período com profissionais como a Dra. Leonor, foi, sem dúvida, uma gratificante oportunidade. Devido à complexidade na mecânica do processo de alterações, houve a necessidade regular de recorrer à ajuda dos colaboradores do Infarmed de modo a compreender e solucionar as várias questões que iam surgindo. A vasta experiência da Dra. Leonor catalisou o meu crescimento enquanto gestora temporária e amadureceu as minhas capacidades de trabalho. Além disso, as várias dicas e truques que me foram dados potenciarão, certamente, o meu sucesso profissional na área regulamentar.

2. Visão da Autoridade Regulamentar

Como resultado do seu papel como árbitro nacional, o Infarmed torna-se uma excelente fonte de conhecimento e experiência na área de assuntos regulamentares, capacitando todos os seus colaboradores com valências essenciais nessa área.

O contacto com a visão da Autoridade Regulamentar é a oportunidade chave que o Instituto proporciona. Além do contacto com o funcionamento dos processos e plataformas, fornece tato e experiência para submissões de pedidos de alteração aos termos de AIM com sucesso, o que permitirá agilizar a avaliação e a célere finalização do processo. Acredito que esta visão do que a autoridade pretende e de como devem ser feitas as várias submissões ser-me-á uma valência com aplicação num futuro regulamentar, quer na autoridade nacional, quer, principalmente, do lado da indústria farmacêutica.

D. Ameaças

I. Filiais e Consultoras

A área de Assuntos Regulamentares, além da Autoridade, está distribuída quer pela Indústria, quer por serviços de Consultoria. São poucas as empresas em Portugal que funcionam independentemente, muitas são multinacionais que se encontram representadas por sucursais ou recorrem a serviços de consultoria para execução de tarefas que concerne à área dos Assuntos Regulamentares.

Refiro este ponto como uma ameaça, na medida em que, algumas vezes comprometeu a submissão dos pedidos à Autoridade Nacional. Foram várias as vezes que fui confrontada com algum desconhecimento e pouco à-vontade face ao contexto dos objetivos dos processos, uma vez que a documentação de suporte remetia, a maioria das vezes, à casa mãe. Daqui resultava um contacto dificultado e uma multiplicação dos pedidos de elementos. A isto acresciam questões que não conseguiam responder uma vez que, em muitas ocasiões, não compreendiam o processo em si e o seu objetivo, assim como a informação passava por vários

intermediários de várias línguas, o que não só atrasou, como dificultou a comunicação e a rápida finalização do processo.

2. Escassez de Recursos Humanos

Valorizando o acompanhamento que recebi e com este, todas as orientações e apoio, é necessário referir que senti que os colaboradores da DAM-UMM estavam frequentemente com uma carga de trabalho elevada.

O elevado volume de trabalho relativamente aos recursos humanos disponíveis para o escoar, leva a que existam numerosos processos submetidos ao Infarmed que não são analisados em tempo útil. Considero este aspeto uma ameaça, não só ao posicionamento externo do Infarmed, podendo transparecer falta de competência dos profissionais quanto a celeridade de finalização de processos; Como também ao trabalho que desempenhei enquanto estagiária, uma vez que devido à constante alteração do panorama regulamentar do setor da saúde são frequentes as situações em que a documentação respetiva ao pedido submetido pelos titulares se encontra desatualizada, o que despoletou um pedido de atualização da mesma, com consequentes custos, encargos administrativos e tempo despendidos desnecessariamente.

IV. Considerações Finais

O estágio no INFARMED, I.P. representou uma experiência enriquecedora na área de Assuntos Regulamentares, que considero ser uma mais-valia na minha formação, não só pelo interesse pessoal na área, mas também pela possibilidade de experienciar uma área do medicamento que influencia o mercado farmacêutico, nacional e internacional, e, conseqüentemente, a saúde pública.

Dada a exigência de uma posição nesta vertente, um caráter de perspicácia e uma grande capacidade de relação entre as várias vertentes legislativas, regulamentares, científicas e técnicas são competências essenciais a deter enquanto profissional na área regulamentar, competências essas que o Infarmed permitiu-me desenvolver, quer pelo contacto com os colaboradores, como pelas tarefas às quais fui designada.

Além disso, a estreita ligação com a indústria farmacêutica e com as comissões científicas a nível nacional e internacional, capacitam o instituto de um vasto conhecimento do setor, que é uma mais-valia para qualquer especialista do medicamento devido à elevada importância da área de assuntos regulamentares no setor farmacêutico.

Por fim, resta-me agradecer à Direção de Avaliação de Medicamentos e a toda a sua equipa técnica, mais concretamente à Dra. Leonor pelo acompanhamento diário, valores transmitidos, disponibilidade e amizade que tornaram esta experiência enriquecedora.

V. Referências Bibliográficas

1. INFARMED, I.P. - Apresentação. [Consultado a 13 de junho de 2019]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/apresentacao>

2. INFARMED, I.P. - Direção de Avaliação de Medicamentos (DAM). [Consultado a 13 de junho de 2019]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/estrutura-e-organizacao/dam>

3. EUROPEAN MEDICINES AGENCY- Angiotensin-II- receptor antagonists (sartans) containing a tetrazole group. 2019. [Consultado a 6 de julho de 2019]. Disponível na Internet: https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/sartans-article-31-referral-annex-i_pt.pdf

4. INFARMED, I.P. - Comissão de Avaliação de Medicamentos. [Consultado a 21 de junho de 2019]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/estrutura-e-organizacao/comissoes-tecnicas-especializadas/comissao-de-avaliacao-de-medicamentos>

5. INFARMED, I.P. - Rede europeia de laboratórios oficiais. 2016. [Consultado a 31 de julho de 2019]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/controlo-laboratorial-de-medicamentos/rede-europeia-de-laboratorios-oficiais>

6. INFARMED, I.P. - Direção de Comprovação da Qualidade (DCQ). [Consultado a 31 de julho de 2019]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/estrutura-e-organizacao/dcq>

Parte III

Monografia

Cardiovascular Diseases: A Perspective Around the Clock

Index of Figures

Figure 1 – Schematic representation of SCN.....	48
Figure 2 – Reception of light signals in mammals.....	49
Figure 3 – Schematic representation of the circadian clock system and outputs.....	50
Figure 4 – Schematic representation of the transcriptional–translational loops regulating circadian rhythms in mammals.....	52

List of Abbreviations

Bmal-I	Brain and Muscle Arnt Like-I Gene
BMAL-I	Brain and Muscle Arnt Like-I Protein
BP	Blood Pressure
bZIP	Basic Leucine Zipper
CBK	Cardiomyocyte Specific Bmal-I Knockout
CCGs	Clock-Controlled Genes
Clock	Circadian Locomotor Output Cycles Kaput Gene
CLOCK	Circadian Locomotor Output Cycles Kaput Protein
Cry	Cryptochrome Gene
CRY	Cryptochrome Protein
CVDs	Cardiovascular Diseases
Dbp	D-site albumin promoter binding proteins
E4BP4	E4 promoter-binding Protein 4
E-Box	Enhancer Box
Hlf	Hepatic Leukaemia Factor
HR	Heart Rate
Hsd3b6	3 β -hydroxysteroid dehydrogenase
MAPEC	Ambulatory Blood Pressure Monitoring for Prediction of Cardiovascular Events
MI	Myocardial Infarction
PAI-I	Plasmin Activator Inhibitor-I
PAR	Proline-and acid-rich
Per	Period Gene
PER	Period Protein

Rer-erb	Reverse Strand of ERBA Gene
REV-ERB	Reverse Strand of ERBA Protein
Ror	Retinoic acid receptor-related orphan receptors Gene
ROR	Retinoic acid receptor-related orphan receptors Protein
TCAP	Titin-Cap
Tef	Thyrotrophic Embryonic Factor
TIME	Treatment In Morning versus Evening

Abstract

Biological rhythms are a ubiquitous feature of life. Most bodily functions, like physiological, biochemical, and behavioural processes, are coupled by the circadian rhythms that are biological rhythms with a period of approximately 24h.

The organism modulates its clocks appropriately in response to external cues in order to anticipate environmental changes, which characterizes a selective advantage. This synchronization is regulated by a central oscillator and established with a coordinated network of peripheral clocks interlocked, which together contribute for the body's normal physiology. In the Cardiovascular System, for example, the circadian mechanism orchestrates rhythms in heart rate, blood pressure, cardiac contractility, and metabolism.

However, the current lifestyles impose external timing constraints that clash with our internal circadian physiology, often increasing the risk of cardiovascular disease. Still, the mechanisms of dysregulation are not fully explained as this is a growing area of research.

The main objectives of this review are to briefly describe the circadian system and the mechanisms that are involved and then to explore how cardiac physiology and pathology is linked to the circadian rhythm. This review offers an overview of the existing literature concerning experimental rodent models that have provided insight into the evidence of the roles of the molecular clocks and their effects on physiological functions. Finally, it aims to discuss the role of chronotherapy in the context of cardiovascular diseases and how such approach may improve existing therapies and assist in the development of new ones.

Keywords: Circadian Rhythm; Disruption; Cardiovascular Disease; Animal Models; Chronotherapy.

Resumo

Os ritmos biológicos são uma característica ubíqua à vida. A maioria das funções do organismo, como processos fisiológicos, bioquímicos e comportamentais, são acoplados pelos ritmos circadianos, que são ritmos biológicos com um período de aproximadamente 24h.

O organismo sincroniza os seus relógios em resposta a estímulos externos de forma a antecipar as mudanças ambientais, o que caracteriza uma vantagem seletiva. Essa sincronização é regulada por um oscilador central e estabelecida com uma rede de relógios periféricos coordenada e interligada, que, em conjunto, contribuem para a fisiologia normal do organismo. No Sistema Cardiovascular, por exemplo, o mecanismo circadiano orquestra ritmos na frequência cardíaca, pressão arterial, contratilidade cardíaca e metabolismo.

No entanto, o estilo de vida atual impõe restrições de tempo que entram em colisão com a nossa fisiologia interna circadiana, aumentando o risco de doenças cardiovasculares. Ainda assim, os mecanismos de desregulação não são totalmente explicados uma vez que é uma área de crescente pesquisa.

Os principais objetivos desta revisão são descrever brevemente o sistema circadiano e os mecanismos envolvidos e, em seguida, explorar como a fisiologia e a patologia cardíaca estão ligadas ao ritmo circadiano. Esta revisão oferece uma visão geral da literatura existente sobre modelos experimentais de roedores que forneceram informações sobre as evidências dos papéis dos relógios moleculares e os seus efeitos nas funções fisiológicas. Finalmente, o objetivo é discutir o papel da cronoterapia no contexto de doenças cardiovasculares e como essa abordagem pode melhorar as terapias existentes e auxiliar no desenvolvimento de novas.

Palavras-Chave: Ritmo Circadiano; Disrupção; Doença Cardiovascular; Modelos Animais; Cronoterapia.

I. Introduction

The Earth's rotation and orbit around the sun determine daily and seasonal changes that influence directly the functioning of an organism (CRNKO *et al.*, 2018, FUHR *et al.*, 2015).

With the evolution, organisms have developed an internal timing system, the circadian rhythm, derived from the Latin words *Circa* and *dies* that means "about a day" (CRNKO *et al.*, 2018, FUHR *et al.*, 2015). That imparts a survival advantage by enabling an organism to adapt and anticipate that environmental changes and thus tailor its behaviour and physiology to the appropriate time of the day in a best-fit manner (FUHR *et al.*, 2015, KUMAR *et al.*, 2019).

These rhythms are driven by a system of self-sustained clocks that are organized as a biochemical network of molecular clocks for keeping track of time (BORGS *et al.*, 2009). Therefore, biological processes must occur in a specific order to prevent concurrent activation of potentially incompatible mechanisms, so consideration of the temporal relationship between processes is critical for our understanding of the molecular basis of physiology and the pathogenesis of the disease (GAMBLE *et al.*, 2014).

Revitalized enthusiasm in chronobiology has been partly fuelled by the recognition of three chronobiologists with the Nobel Award Prize in Physiology or Medicine in 2017, Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash and Michael W. Young (CRNKO *et al.*, 2018). Their discovery was the start of a period in which the vital role of circadian rhythms in physiology and disease was elucidated.

Several lines of evidence suggest the existence of a crosstalk between the disruption of the circadian timing system and development and progression of various diseases, including cardiovascular diseases (FUHR *et al.*, 2015, KUMAR *et al.*, 2019).

The knowledge of circadian modulation of cardiovascular function is of clinical relevance given the morning peak in adverse cardiovascular incidents observed in epidemiological studies. Although a circadian rhythm disruption-based model of cardiovascular disease aetiology can be proposed, more investigations are required to fully understand the complex network of diseases due to disruption of the circadian rhythms.

II. Cardiovascular Diseases: A Global Cause of Death

According to the World Health Organization, Cardiovascular Diseases (CVDs) are the number one cause of death worldwide, as more people die annually from it than from any other cause (WHO, 2017). Despite advancements in prevention and treatment, the mortality is represented for over 17.9 million deaths per year (WHO, 2018). Ischaemic heart disease and stroke are responsible for 15.2 million deaths in 2016 and have remained the leading causes of death globally in the last 15 years (WHO, 2018, WONG *et al.*, 2019).

Cardiovascular diseases are disorders of the heart and blood vessels and include coronary heart disease, cerebrovascular disease and arterial hypertension, among other conditions.

- Acute Myocardial Infarction

Acute myocardial infarction (MI) is the most severe manifestation of coronary artery disease. In most cases, MI is due to atherosclerotic plaque or erosion of the coronary artery endothelium. The result of the ischemic event is myocyte necrosis which is detectable by elevation of cardiac biomarkers in the peripheral blood (ANDERSON and MORROW, 2017, REED *et al.*, 2017).

- Cardiomyopathy

The term cardiomyopathy is used only when a disorder directly affects the heart muscle. In particular, dilated cardiomyopathy is characterized by a ventricular dilation which leads to decreased myocardial contractility. Hypertrophic cardiomyopathy is a congenital or acquired disorder characterized by marked ventricular hypertrophy and increased stiffness of ventricular walls (STAMOS, 2018). Both types lead to a significant decrease in systolic function (LEFTA *et al.*, 2012).

- Arterial Hypertension

Blood pressure is created by the force of circulating blood exerted against the walls of the arteries as the heart pumps it. When the pressure is persistently raised, that calls hypertension. An estimated 1.13 billion people worldwide have arterial hypertension (WHO, 2019), which is typically diagnosed when the systolic blood pressure and the diastolic blood pressure are persistently above 140 mmHg and 90 mmHg, respectively (DZAU and BALATBAT, 2019).

There are several risk factors for CVD, including obesity, dyslipidaemia, and diabetes (REUTRAKUL and KNUTSON, 2015). Moreover, tobacco use, physical inactivity, and harmful use of alcohol have also been identified as contributors (KERVEZEE *et al.*, 2018). Furthermore, arterial hypertension may also be considered as a risk factor for the development and

worsening of CVD (WHO, 2019) However, disruption of the circadian rhythm has also been suggested to lead to CVD, or at least predispose to their development.

III. The Clock Disruption as a Potentially Novel Risk Factor

In humans, all aspects of physiology are rhythmic since the cerebral activity, heart rate, and blood pressure, renal activity, the endocrine system, the immune system, and body temperature (BOLLINGER and SCHIBLER, 2014).

There is considerable and compelling evidence that exists a rhythm in the cardiac system, and that profoundly influences the physiology and pathophysiology of the cardiovascular system (RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019).

In cardiovascular physiology, one of the most visible effects of the circadian rhythm is its influence on Blood Pressure (BP) and Heart Rate (HR), which exhibit fluctuations during the day, for example both BP and HR exhibit higher values in the morning and lower values in the evening (CRNKO *et al.*, 2018, RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019). Moreover, other parameters also exhibit rhythmicity, namely vascular tone and platelet aggregation, which are increased in the morning hours (CRNKO *et al.*, 2018, MAEMURA *et al.*, 2007).

Also, cardiovascular pathophysiology shows a similar rhythmicity, as cardiovascular events do not occur at random times throughout the day (ALIBHAI *et al.*, 2015). A series of studies has demonstrated that almost all acute cardiovascular events, follow a pattern with a peak of frequency in the early morning (CRNKO *et al.*, 2018, FABBIAN *et al.*, 2017). For example, MI and sudden cardiac arrest are more likely to occur during the early hours of the day (RÜGER and SCHEER, 2009).

As daily rhythmicity is vital for a healthy cardiovascular system, it also creates a circadian-regulated gap of vulnerability that underlies heart disease (KHAPER *et al.*, 2018). Therefore, a growing body of experimental and clinical evidence points toward linking circadian desynchronization as a causal factor in the pathogenesis of heart disease (ALIBHAI *et al.*, 2015, RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019).

Circadian rhythm disturbance is especially relevant in actual society, where we often experience desynchrony due to new habits (KHAPER *et al.*, 2018).

IV. Circadian Clock System

As previously mentioned, circadian rhythms correspond to the set of endogenous biochemical, physiological and behavioural processes that oscillate in 24h cycles and which are capable of synchronization with external signals. These rhythms regulate many of the functions of the human organism, among which metabolism, physiological processes, sleep pattern and hormone production are included (FUHR *et al.*, 2015).

A. Master Clock in the Suprachiasmatic Nucleus

The circadian timing system has three significant components: an input pathway to the central circadian pacemaker, the central clock itself, and output pathways by which physiological processes are regulated (LOGAN and MCCLUNG, 2018).

The master circadian clock is located in the suprachiasmatic nucleus (SCN) of the hypothalamus, located anteriorly and above the optic chiasm (CRNKO *et al.*, 2018).

The SCN consists of a pair of oval nuclei of approximately 100,000 neurons in humans (BOLLINGER and SCHIBLER, 2014). As shown in Figure 1, it is cytochemical and functionally classified into two regions, the Core (ventrolateral region) and the Shell (dorsomedial region). The core predominantly consists of the vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and gastrin-releasing peptide (GRP) and receive major afferents from the environment through the retina. In contrast, the Shell consists primarily of arginine vasopressin (AVP) and is considered to play an essential role in rhythm output (HONMA, 2018).

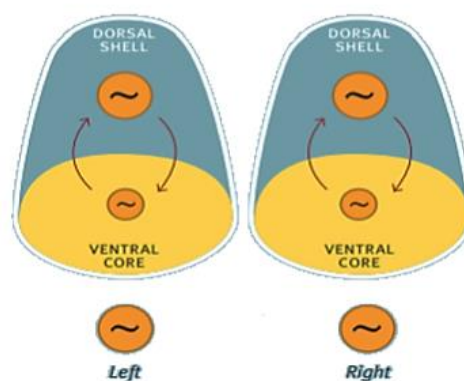


Figure 1 – Schematic representation of SCN | The SCN is divided into two hemispheres (the right and left), each of them is neurochemically divided in the region ventrolateral and dorsomedial region (right), which are distinguished by the releasing neurotransmitters. Adapted from ALBERS *et al.* (2017).

B. Synchronization of Circadian Clock

To maintain rhythmic physiology, the SCN stays synchronized with the outside world and provides that the clocks are readjusted every day. This synchronization is accomplished by the *zeitgebers*, from the German word that means “time giver”, that are external variables capable of synchronizing the organism (RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019), namely light, behaviour, food, and exercise (CRNKO *et al.*, 2018).

The mammalian circadian clock is hierarchically organized into three main components: input signalling pathways, which receive, process and transmit the input signals; the central pacemaker, which is responsible for integration into useful information; and output signalling pathways through which circadian rhythms expression can be synchronized to maintain a uniform internal time (FUHR *et al.*, 2015).

The master clock is periodically calibrated through light perception in the morning (KUMAR *et al.*, 2019). Light is the most potent entraining signal (FUHR *et al.*, 2015, HIDA *et al.*, 2012), reaching the SCN through the retina. In there, photic information received intrinsically by specialized melanopsin-producing photosensitive ganglion cells (ipRGCs) (JAGANNATH *et al.*, 2017, LOGAN and MCCLUNG, 2018, OKAMURA *et al.*, 2010) is projected to the hypothalamus via the retinohypothalamic tract until the SCN (Figure 2), where the electrical input is converted into chemical signals that trigger clock gene transcription and its translation into proteins (BOLLINGER and SCHIBLER, 2014).

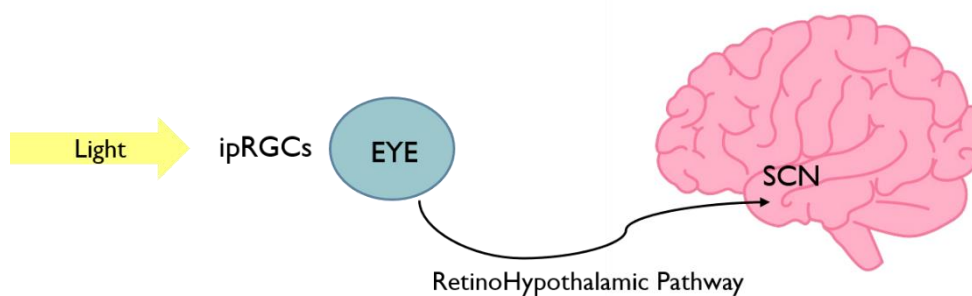


Figure 2 – Reception of light signals in mammals | Light is the predominant environmental cue that is received by the SCN and provides information time to the central clock; photic input reaches the melanopsin-producing photoreceptive retinal ganglion cells (ipRGCs), in the eye and is transmitted via the retinohypothalamic tract until de SCN. Adapted from MAURY *et al.* (2010) and OKAMURA *et al.* (2010).

In addition to the regulation of the circadian rhythm, light also leads to the inhibition of melatonin production and release by the pineal gland (MAURY *et al.*, 2010).

C. The Circadian Clock in Tissues: Peripheral Clocks

Peripheral clocks may be found in most tissues in the body (CRNKO *et al.*, 2018). They are not light sensitive, thus their expression depends on a hierarchical system where SCN clock communicates with the peripheral organs through neuronal and humoral outputs (STOW and GUMZ, 2011). However, the mechanisms by which the central clock adjusts the phases of peripheral clocks have not yet been elucidated (TAKEDA and MAEMURA, 2011).

The circadian clock has systemic effects at the organismal level which are due to the complex dynamics generating a highly precise signal and leading to the propagation of a cascade of events which influence numerous cellular processes (CRNKO *et al.*, 2018, FUHR *et al.*, 2015). Within this evidence, new clock-controlled genes (CCGs) have been identified, that can work as output target genes and their expression is tissue-specific (FUHR *et al.*, 2015).

As shown in Figure 3, the master clock produces rhythmic input signals that orchestrate peripheral clocks, which in turn underlie rhythms in physiology, metabolism and behaviour through CCGs (BORGS *et al.*, 2009, FUHR *et al.*, 2015).

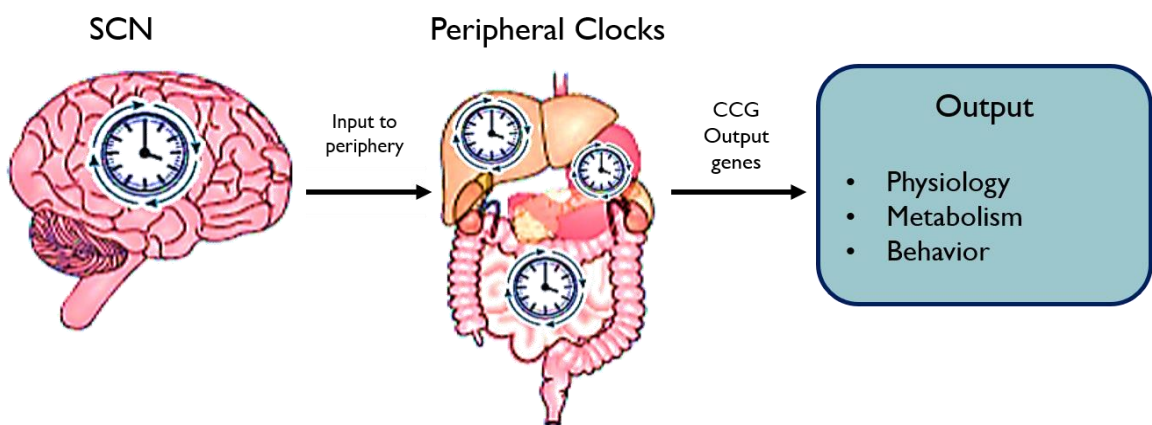


Figure 3 – Schematic representation of the circadian clock system and outputs | The SCN regulate the molecular clocks of all peripheral organs. These peripheral clocks control diurnal fluctuations of many physiological phenomena, including the sleep-wake, temperature, and metabolic pathways, that contributed to tissue homeostasis. Adapted from LIU *et al.* (2007) and TAHARA and SHIBATA (2016).

I. The Cardiovascular Clock

Peripheral clocks have been identified and characterized within all mammalian cells types, including cardiac cells like cardiomyocytes, vascular smooth muscle cells, endothelial cells, and fibroblasts (CRNKO *et al.*, 2018, DURGAN and YOUNG, 2010).

Circadian gene expression in each tissue has specific roles and optimized to best accommodate that tissue's respective function throughout a circadian cycle (CRNKO *et al.*, 2019). In the cardiovascular system, several CCGs in the heart have been identified (TAKEDA

and MAEMURA, 2016) and they regulate the oscillation of cardiovascular function as the rhythmic output of cardiac genes and proteins, cardiac contractility, and metabolism (KHAPER *et al.*, 2018, MAEMURA *et al.*, 2007).

D. Molecular Components of the Molecular Clock

The molecular mechanisms of the generation and maintenance of rhythms are similar in the central and peripheral clocks (CRNKO *et al.*, 2019). This hierarchical system is made of an interconnected network of transcriptional-translational feedback loops (CRNKO *et al.*, 2019).

Briefly, the positive feedback comprises two genes – Circadian Locomotor Output Cycles Kaput (Clock) and Brain and Muscle Arnt Like-1 (Bmal-1) – that are transcriptionally activated during the early time of the circadian day (FUHR *et al.*, 2015, RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019).

The BMAL-1 and CLOCK form a heterodimer that binds to the Enhancer box (E-box), that are short DNA sequences located on the promoters of genes, such as Period (Per) and Cryptochrome (Cry), activating its transcription, followed by the translation of the respective proteins, PER and CRY (FUHR *et al.*, 2015).

PER and CRY gradually accumulate in the cytoplasm and form a complex that is translocated to the nucleus and interact with CLOCK/BMAL-1 heterodimer (SAITO, 2015). Thus, a negative feedback loop formed in which PER/CRY inhibits their transcription by blocking CLOCK/BMAL-1 activity (FUHR *et al.*, 2015, HIDA *et al.*, 2012).

As a result, the amount of PER and CRY decreases, reaching such a low concentration that it is insufficient to inhibit CLOCK/BMAL-1, which is once again available for E-box connection which culminates with the new production of PER and CRY (CRNKO *et al.*, 2019).

Besides, CLOCK/BMAL-1 is still inserted in an auxiliary feedback mechanism that provides robustness and phase-shifting properties of the clockwork circuitry to this cycle (BORGS *et al.*, 2009). Similarly, CLOCK/BMAL-1 heterodimer binds to E-box of retinoic acid receptor-related orphan receptors (Ror) and nr1d1, initiating the transcription and subsequently the translation of ROR and reverse strand of ERBA (REV-ERB) (LOGAN and MCCLUNG, 2018). The resulting proteins compete for retinoic acid-related orphan receptor response elements (RORE) within the Bmal-1 promoter region (FUHR *et al.*, 2015). Depending on which competing molecule binds to Bmal-1 – ROR or REV-ERB – an activation or inhibition of the transcription of Bmal-1 will be obtained, respectively (CRNKO *et al.*, 2018).

The hypothetical molecular circadian clock is represented in Figure 4 in a simplified way.

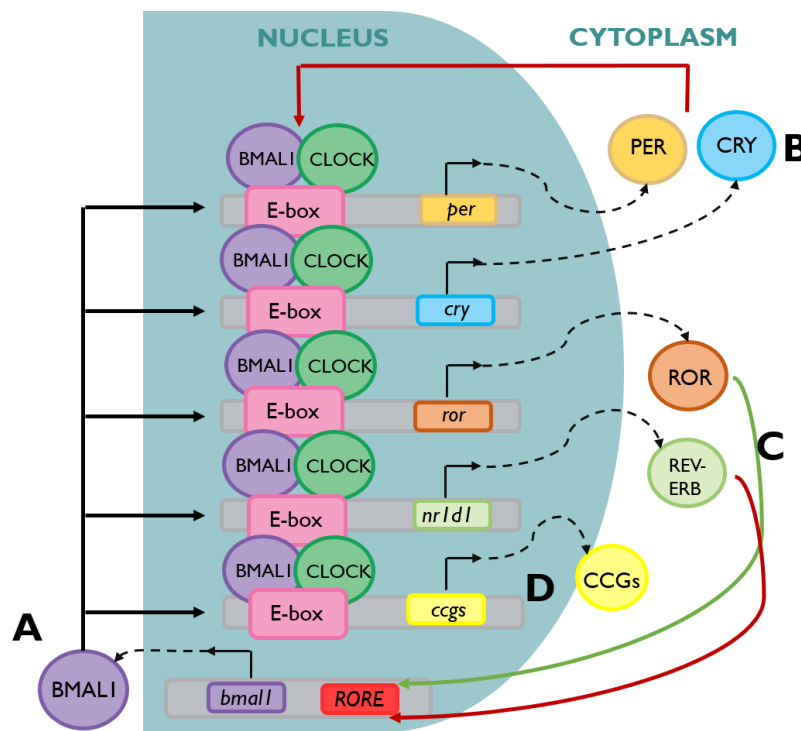


Figure 4 – Schematic representation of the transcriptional–translational loops regulating circadian rhythms in mammals | The heterodimer CLOCK/BMAL-1 bind to the E-boxes of *Cry* and *Per*, thereby initiating their transcription. CRY, and PER then form a heterodimer that translocated to the nucleus and inhibits the CLOCK/BMAL1 complex (A). Similarly, CLOCK/BMAL1 activates *Ror* and *Nr1d1* that form ROR and REV-ERB, which in turn activate or inhibit BMAL1 transcription, respectively (B). Besides, CLOCK/BMAL-1 also activates the transcription and translational of CCGs (C). Adapted from STOW and GUMZ (2011).

Although the first thought was that 10% of the genome is under circadian control (STOW and GUMZ, 2011), recent studies indicate that roughly 50% of all genes oscillate in a circadian manner (FUHR *et al.*, 2015).

Importantly, different sets of CCGs have been found to exhibit phase variability in different tissues correlating to their tissue-specific functions (KUMAR *et al.*, 2019).

Also, CLOCK/BMAL-1 heterodimers activate the transcription of an array of CCGs, for example arginine vasopressin which mediates the circadian variation of physiological and pathophysiological functions (TAKEDA and MAEMURA, 2015). CCGs also include three proline and acid-rich (PAR) basic leucine zipper (bZip) transcription factors: D-site albumin promoter binding proteins (Dbp), hepatic leukaemia factor (Hlf) and thyrotrophic embryonic factor (Tef) (TAKEDA and MAEMURA, 2011).

These transcription factors are antagonized by another transcription factor, the E4 promoter-binding Protein 4 (E4BP4), which is induced by REV-ERB (TAKEDA and MAEMURA, 2016, YOUNG, 2006).

Regarding the cardiovascular system, rhythmic activation of CCGs leads to fluctuations in various functions of endothelial cells, vascular smooth muscle cells, fibroblasts and

cardiomyocytes, eventually leading to oscillations in proteome and cell function (CRNKO *et al.*, 2019). In respect to the blood vessels, circadian rhythms were first described in mouse aortas when isolated at different periods of the day (PASCHOS and FITZGERALD, 2010). A previous study confirmed these findings by showing rhythmic PER 1 luciferase activity in transgenic rat veins and arteries *ex vivo* (CRNKO *et al.*, 2018). Further studies have confirmed that the several cellular constituents of the vascular wall exhibit a functional circadian clock, namely endothelial cells, vascular smooth muscle cells and fibroblasts (CRNKO *et al.*, 2019).

In vascular endothelial cells, the existence of intrinsic circadian rhythms has been confirmed *in vitro* by synchronizing hemangioendothelioma and human umbilical vein endothelial cells with serum shock (CRNKO *et al.*, 2018) as in the vascular smooth muscle cells that the express circadian oscillations are shown *in vitro* following serum shock of cells derived from healthy arteries (CRNKO *et al.*, 2018).

The existence of self-sustained circadian clock in fibroblasts is suggested by a circadian pattern of expression for all circadian clock components in fibroblasts in culture after synchronization with a serum that persists for more than 20 days in culture (PASCHOS and FITZGERALD, 2010).

V. From Disturbed Rhythm to Disease

As circadian rhythms modulate vital processes and physiology, it is not surprising that several health problems can be associated with its disruption. Circadian rhythms have been linked to almost all diseases, including cancer (CRNKO *et al.*, 2019), arthritis (HAND *et al.*, 2016) and depression (LOGAN and MCCLUNG, 2018). In cardiovascular disease, knowledge gathered from animal and human studies led to the association between circadian rhythms and the development and outcome of disease (CRNKO *et al.*, 2019).

Circadian disruption occurs when the circadian timing system as a whole is desynchronized from the environmental cycles and between the internal clocks, and this can be caused by environmental factors and intrinsic factors and cause detrimental cardiovascular health (MORRIS *et al.*, 2012).

A. Environmental Factors

Modern life exposes individuals more and more to disruption, due to the current living conditions and behaviours such as sleep disorders, shift work, flights across different time zones and prolonged nocturnal activities with exposure to artificial light (CRNKO *et al.*, 2018).

Epidemiological studies and experimental data demonstrate a link between the environment and disease, although causality has been difficult to establish.

There is vast evidence from epidemiological studies linking shift work to an increased risk for cardiovascular disease, diabetes and obesity (RÜGER and SCHEER, 2009). Working at night requires not only the presence of light, which causes sleep disturbances and suppresses natural melatonin production, but also changes the activity-rest rhythm and fasting/feeding cycle. Subsequently, this results in a loss of coordination between oscillators as they are adjusted by the different *zeitgeber* signals (RÜGER and SCHEER, 2009).

However, indirect effects due to lifestyle because of shift work itself, namely diet, workload and sleep deprivation, may also influence the conclusions of these studies (FUHR *et al.*, 2015, RÜGER and SCHEER, 2009). Nevertheless, studies which included healthy shift workers demonstrated that circadian misalignment increases BP and markers of inflammation (ALIBHAI *et al.*, 2015, CRNKO *et al.*, 2018, MORRIS *et al.*, 2016, REUTRAKUL and KNUTSON, 2015). Furthermore, various meta-analysis on shift work and cardiovascular disease have shown an increased risk for cardiovascular events, namely for MI (MANFREDINI *et al.*, 2018, RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019, VYAS *et al.*, 2012).

Other cause of disruption can be jet lag. In fact, the desynchronization of external and internal time also causes poor sleep, fatigue, poor appetite, and gastrointestinal disturbances for several cycles following changes in time zones (BECKETT and RODEN, 2009).

In addition to the above mentioned, sleep disorders can be responsible for the disruption of circadian rhythms (CRNKO *et al.*, 2018), as a considerable portion of the world's population does not achieve the recommended 7-8 hours of sleep (CRNKO *et al.*, 2018).

Evidence suggests that poor or short sleep habits (i.e. less than 6,5 hours of sleep per night) led to increased blood pressure and heart rate in healthy individuals (CRNKO *et al.*, 2019, GAMALDO *et al.*, 2014) and is associated with increased morbidity and mortality, mainly from cardiovascular disorders (TOBALDINI *et al.*, 2018). At the molecular level, sleep deprivation was demonstrated to impact diurnal gene expression in mice, resulting in altered expression of genes in the heart (ANAFI *et al.*, 2013). Also, artificial light and technology appears to provoke desynchronization and to be associated with sleepiness (CRNKO *et al.*, 2019).

B. Intrinsic Factors

One of the critical questions is how the peripheral clock is altered under disease conditions. Comprehensive studies have been carried out to investigate the significance of clock gene perturbations, at the cellular and organismal levels (FUHR *et al.*, 2015).

Current evidence shows that the cardiovascular circadian clock is disturbed during disease states and that this molecular mechanism may influence the aetiology of several cardiovascular disease states (DURGAN and YOUNG, 2010).

However, more studies are needed to fully understand the complex interactions of the different components in the disease's network due to disruption of the clock rhythms.

Delineating the causal role of the circadian mechanism has been approached using sophisticated genetic manipulations in a tissue-specific manner through animal models with mutations in core clock genes (ALIBHAI *et al.*, 2015, XU *et al.*, 2019).

Several clock genes were reported to play a crucial role in the daily regulation of BP (RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019). *Bmal-1* seems to be one of them since in *Bmal-1*-knockout mice exhibited a loss of diurnal variation in BP, that resulted in hypotensive mice and lack of night-time spike in BP (ALIBHAI *et al.*, 2015, ANEA *et al.*, 2009, CURTIS *et al.*, 2007, LEFTA *et al.*, 2012). A loss of diurnal variation in HR that provoked arrhythmic behaviour has also been shown (TAKEDA and MAEMURA, 2015).

Besides, *Cry* is also involved in BP regulation. In contrast to the genetic deletion of *Bmal-1*, deletion of the *Cry* gene resulted in increased BP and hypertensive mice (MASUKI *et al.*, 2005). Experiments with *Cry*-knockout mice showed the development of salt-sensitive hypertension as a result of an increase in aldosterone synthesis through one of the enzymes in the aldosterone synthesis pathway, the 3- β -hydroxysteroid dehydrogenase (*Hsd3b6*) (STOW and GUMZ, 2011, TAKEDA and MAEMURA, 2011), which is repressed by the *Cry* gene (TAKEDA and MAEMURA, 2016). In turn, aldosterone promotes the reabsorption of sodium ions and water in the kidney (DOUMA and GUMZ, 2018).

Further experiments using cardiomyocyte-specific *Bmal-1*-knockout (CBK) mouse model (YOUNG *et al.*, 2014) showed that *Bmal-1* plays an important role in maintaining the structural and functional integrity of cardiac muscle (LEFTA *et al.*, 2012). A functional consequence of chronic genetic ablation of *Bmal-1* in the cardiomyocyte is the development of dilated cardiomyopathy with reduced cardiac contractility, and sarcomeric disorganization at the cellular level (LEFTA *et al.*, 2012, TAKEDA and MAEMURA, 2015, YOUNG *et al.*, 2014). This result is explained by the role of *Bmal-1* in the regulation of the protein Titin-cap or TCAP, which is a crucial component for the integrity and function of the myocardial sarcomere and

for the mechanical and signalling functions of the heart (PODOBED *et al.*, 2014). The ablation in this gene is associated with shifts in TCAP isoform composition, that resulted in disruption of sarcomeric structure (LEFTA *et al.*, 2012).

Furthermore, the Clock gene is also a key regulator of TCAP (ALIBHAI *et al.*, 2015, PODOBED *et al.*, 2014).

Despite this, a previous study revealed novel functions for Bmal-1 and Clock in the heart, including regulation of metabolism (TAKEDA and MAEMURA, 2015). Since Clock mutant and Bmal-1 deficient mice have exhibit increased fatty acid oxidation and decreased glucose oxidation and glycolysis, those may contribute as risk factors for heart disease (LEFTA *et al.*, 2012, MARTINO and YOUNG, 2015, TAKEDA and MAEMURA, 2015). Specifically, Clock mutant mice have altered the diurnal abundance of protein, including enzymes crucial for vital metabolic pathways in the heart (ALIBHAI *et al.*, 2015, TAKEDA and MAEMURA, 2011).

Another evidence of the essential role of the circadian rhythm comes from mice with simultaneous knockout of the circadian output genes Dbp, Hlf, and Tef. Animal model studies have shown the development of hypertrophic cardiomyopathy in these mice, that is cardiac hypertrophy and ventricular dysfunction (ALIBHAI *et al.*, 2015, MARTINO and YOUNG, 2015, TAKEDA and MAEMURA, 2011).

Furthermore, other studies have shown that the expression of core clock genes is also strikingly affected in myocardial ischemia. The clock gene E4BP4 significantly accumulates during myocardial ischemia and subsequently antagonizes the circadian function of the transcription factors Dbp, Hlf and Tef (TAKEDA and MAEMURA, 2016, TAKEDA and MAEMURA, 2015).

Another aspect that has been studied concerning the daily cycle is the vascular function. The roles of clock genes in vascular physiology have also been studied using mice with genetically engineered clock genes. A mutation in the Per gene was associated with endothelial dysfunction, decreased production of nitric oxide and vasodilator prostaglandins and increased vasoconstrictor production (RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019, TAKEDA and MAEMURA, 2015, WANG *et al.*, 2008). The results suggest an essential role of the Per gene in the maintenance of healthy cardiovascular functions (VISWAMBHARAN *et al.*, 2007). Besides, Per mutant mice and also Bmal-1-knockout mice and Clock-mutant mice exhibit endothelial dysfunction (XU *et al.*, 2019).

The coagulation cascade is also another factor that contributes to affect the circadian onset of cardiovascular disorders. Systemic coagulation activity is determined by the balance between coagulation and fibrinolytic activities and shows diurnal variation (TAKEDA and MAEMURA, 2016). The abundance of the Plasmin Activator Inhibitor-1 complex (PAI-1),

decreases in the morning and results in reduced fibrinolytic activity (MAEMURA *et al.*, 2007), which is consistent with the increased risk and morning peaks in clinical cardiovascular events (ANEA *et al.*, 2009, OISHI *et al.*, 2009, PASCHOS and FITZGERALD, 2010).

The heterodimer of CLOCK/BMAL-1 binds to the E-box of the PAI-1 gene, thereby activating its transcription (TAKEDA and MAEMURA, 2015). Therefore, the circadian variation in thrombosis was lost in Clock mutant or Bmal-1-deficient mice, suggesting that the peripheral clock regulates diurnal thrombogenicity (WESTGATE *et al.*, 2008). Thus, in Bmal-1-knockout mice, PAI-1 gene expression is increased as well as plasma fibrinogen and platelets (TAKEDA and MAEMURA, 2015).

Table I- Clock Disturbance: Resume of the Effects from Animal Studies

Clock Disturbance	Effects
Regulation of Blood Pressure	
Bmal-1 KO	Loss of diurnal variation in BP and HR: Hypotensive mice Arrhythmias
Cry KO	Salt-sensitive hypertension
Integrity of Cardiac Muscle	
Bmal-1 KO	Dilated Cardiomyopathy: ↓ cardiac contractibility and ↓ sarcomeric organization Disruption in sarcomeric structure: Shifts TCAP isoform composition
Dbp, Hif and Tef KO	Hypertrophic Cardiomyopathy: cardiac hypertrophy and ventricular dysfunction
Metabolism	
Clock Mutation Bmal-1 KO	↑ fatty acid oxidation ↓ glucose oxidation ↓ glycolysis
Vascular Function	
Per Mutation	Endothelial dysfunction: ↓ Production of nitric oxide ↓ Vasodilation Prostaglandins ↑ Vasoconstrictor production
Coagulation Cascade	
Clock Mutation Bmal-1 KO	Loss of variation in thrombosis
Bmal-1 KO	↑ PAI-1 gene ↑ Plasma fibrinogen ↑ Platelet

Collectively, these studies are essential for demonstrating relevant relationships between the circadian mechanism and cardiovascular disease aetiology and pathology.

VI. Time Treatment: Chronotherapy

Whereas other patient features, such as age, sex, comorbidities, are increasingly considered, time is usually forgotten. Therefore, it is essential to increase the awareness that timing can be an essential factor in the success or failure of therapy (CRNKO *et al.*, 2018).

Wide interpatient variability in pathophysiology and therapeutic response has become increasingly relevant, thus personalized medicine represents a useful tool to ensure maximum treatment efficacy with minimal adverse events and toxicity (BALLESTA *et al.*, 2017, CRNKO *et al.*, 2018).

The chronotherapeutic approach is based on targeting treatments toward the rhythm generating biologic timing systems (CRNKO *et al.*, 2018, OHDO *et al.*, 2019) using the same medication but looking for pharmacokinetics process as absorption, distribution, metabolism and excretion and physiological system of the drug targets in other words pharmacodynamics profiles at different times of the day (HERMIDA *et al.*, 2013, MISTRY *et al.*, 2017, RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019, SELFRIDGE *et al.*, 2016).

In this context, Phase III clinical trials have emerged that test chronotherapy versus conventional therapies, showing significant increases in tolerability and efficacy (BALLESTA *et al.*, 2017).

A. Clinical Applications in Cardiovascular Disease

Several new lines of evidence reveal the translational application of circadian rhythmicity to the clinical field. Personalized medicine and optimization of cardiac drug administrations may lead to an improvement of the outcomes (RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019).

For example, the higher incidence of early morning cardiovascular events has been attributed, in part, to the increase in sympathetic activity before wakening. It has been hypothesized that administering medications that antagonize sympathetic activity in the cardiovascular system at bedtime would provide peak concentrations during these early morning hours (CRNKO *et al.*, 2018).

I. Anti-hypertensive medication

BP increases in the early morning, followed by a plateau during the day and then dip during the sleep. Healthy individuals experience a 10-20% decrease in BP at night. People who do not exhibit this “dip” of at least a 10% in resting BP are termed “non-dippers” and have increased

risk of cardiac death (MAEMURA *et al.*, 2007, RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019, STOW and GUMZ, 2011).

Despite growing evidence, chronotherapy is not uniformly recommended in the treatment of hypertension. Careful selection of patients and anti-hypertensive agents for chronotherapy is required, and further investigation is needed to evaluate the definitive impact of chronotherapy on cardiovascular outcomes (STRANGES *et al.*, 2015).

All studies have highlighted the evaluation of the 24-hour BP profile as an indicator of cardiovascular health rather than single daytime office measurements and conclude that, in “non-dipper” patients, anti-hypertensive therapy delivered at night is highly effective at correcting that pattern.

The first examples are the Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin-II Receptor Blockers. Briefly, the literature on the Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Ramipril shows that (a) the BP during sleep was significantly reduced in bedtime-dosed patients compared with morning-dosed patients and that (b) night-time dosing increases its effectiveness, leading to a BP reduction that lasted 24 hours after bedtime dosing compared with 16 hours after morning dosing (HERMIDA and AYALA, 2009, HERMIDA *et al.*, 2010a, HERMIDA *et al.*, 2015).

Similarly, the administration of the Angiotensin II Receptor Blocker Telmisartan to hypertensive individuals at bedtime caused a significant decrease in the prevalence of non-dipping towards a more normal dipper profile (HERMIDA *et al.*, 2007, RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019).

In contrast, a study involving the β -blocker Nebivolol showed that the efficacy was significantly higher on the diurnal than on the nocturnal BP mean in bedtime-dosed, which correlates with the circadian fluctuations of the sympathetic tone, namely of plasma noradrenaline (HERMIDA *et al.*, 2005).

Furthermore, the Calcium Channel Blockers have weak and conflicting evidence for use in chronotherapy. In general, bedtime chronotherapy with this class of medicines does not appear to provide a BP advantage over morning administration (STRANGES *et al.*, 2015).

However, a large proportion of the hypertensive population cannot be controlled adequately with a single medication (HERMIDA *et al.*, 2017). In fact, the results of a study with the combination of Valsartan/Amlodipine showed a normalization of the circadian BP profile towards a more normal dipper pattern when the combination is administered at bedtime (HERMIDA and AYALA, 2009, HERMIDA *et al.*, 2017, HERMIDA *et al.*, 2010b).

The prospective Ambulatory Blood Pressure Monitoring for Prediction of Cardiovascular Events (MAPEC) study was specifically designed and conducted to test the hypothesis that bedtime chronotherapy with hypertension medications exerts better BP control and CVD risk reduction than conventional therapy taken on upon-waking (HERMIDA *et al.*, 2010a, HERMIDA *et al.*, 2015, TAKEDA and MAEMURA, 2011). The study provides evidence that bedtime drug administration was more effective in controlling BP and decreasing non-dipping, compared to conventional upon-awakening therapy, thus resulting in a significant reduction of cardiovascular morbidity and mortality (STOW and GUMZ, 2011, TAKEDA and MAEMURA, 2011).

However, the MAPEC study was limited because part of the process of randomisation was not reported, and the end points included some uncommon cardiovascular events, and were not independently refereed (RORIE *et al.*, 2016).

Following up on the MAPEC study, the Treatment In Morning versus Evening (TIME) study (NCT02922023) aims to substantiate the findings of the MAPEC study and test the hypothesis that nocturnal dosing of anti-hypertensive medication reduces cardiovascular events compared with conventional morning dosing. If the results from the TIME study show definitive benefits of nocturnal dosing of anti-hypertensive medication, this will represent the most cost-effective development in the treatment of arterial hypertension and CVD prevention in recent years (RORIE *et al.*, 2016).

In conclusion, non-dippers with essential hypertension can be changed to normal dippers by shifting the time of administration of anti-hypertensive drugs from morning to bedtime. However, the measurement of 24h BP is essential to determine the individual BP pattern and therefore decide on the best administration time (TAKEDA *et al.*, 2009). At present, only the American Diabetes Association has adopted a definitive recommendation to use routine bedtime dosing in patients with diabetes and hypertension (STRANGES *et al.*, 2015).

2. Aspirin

An additional case that highlights the benefit of chronotherapy on CVD outcome is aspirin. In current medicine, the use of antiplatelet medication is the basis for the prevention of cardiovascular events such as MI, since platelet aggregation is one of the mechanisms responsible for their development (BUURMA *et al.*, 2019, RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019). Aspirin has different properties, but in low doses, it mainly works as an antiplatelet agent. In terms of dosing, maintenance doses of 75-325 mg once a day in the morning after awakening are established for the majority of patients (BUURMA *et al.*, 2019).

Studies demonstrated that aspirin taken at night time, as compared with on awakening, may reduce the morning peak in platelet reactivity and thus may reduce cardiovascular risk (ALIBHAI *et al.*, 2015, MISTRY *et al.*, 2017, ZHANGA *et al.*, 2014).

A recent study showed that another reason for taking aspirin at night is supported by microarray analysis that showed that cyclooxygenase I (COX-I), the target of aspirin, oscillates throughout the day (BUURMA *et al.*, 2019). Besides the aspirin is has a short half-life, so it is crucial to consider administering aspirin at the optimal time of day for improved efficacy (RABINOVICH-NIKITIN *et al.*, 2019, ZHANGA *et al.*, 2014).

VII. Future Directions

The circadian clock in the heart has emerged as a molecular mechanism influencing multiple heart diseases. Even though the connection between cardiovascular diseases and the circadian rhythm has been recognised, the underlying mechanisms and its clinical relevance remain to be fully elucidated. Additional tissue-specific studies of the molecular clock are needed. The discovery of novel genes involved in circadian rhythm-related disease will open up new opportunities for therapy or can serve as markers for improved diagnosis as biomarkers (FUHR *et al.*, 2015).

Another therapeutic option might be to change the phase of the circadian clock to a time-of-day setting or specific phase in physiological rhythms that is the most beneficial in each situation. One example is small-molecule modifiers, such as Rev-erb inhibitors, can change the molecular circadian clock to a beneficial state preventing cardiac damage in animal models. Compounds that influence phase, amplitude and period of the circadian rhythm, hopefully, will allow clock-targeting therapies soon (CRNKO *et al.*, 2019, KOJETIN and BURRIS, 2014).

Besides the molecular level, the control of disruption is also important. The strict control of exposure to *zeitgebers* would be recommended in patients as pharmacological strategies to restore their circadian rhythms (BALLESTA *et al.*, 2017).

In the case of arterial hypertension, the rationale that low BP and HR during the night-time coincide with high endogenous melatonin levels and the decreased melatonin production was found in patients with hypertension, and coronary artery disease opened the discussion for the use of exogenous melatonin as a chronotherapeutic (GROSSMAN *et al.*, 2011, SUN *et al.*, 2016).

In a meta-analysis performed on the effect of melatonin on nocturnal BP, the combination of melatonin and antihypertensive treatment was found useful and safe in ameliorating nocturnal hypertension (PANDI-PERUMAL *et al.*, 2016, RÜGER and SCHEER, 2009).

However, the use of melatonin in the treatment of hypertension is still not recommended and, to date, no melatonin formulation has been authorized by the Food and Drug Administration in the US. Therefore, more extensive, large-size clinical trials are needed to evaluate melatonin's efficacy as a novel therapeutic intervention in CVDs (PANDI-PERUMAL *et al.*, 2016).

VIII. Final Considerations

Since the first mammalian core clock gene has been identified, impressive progress has been made in understanding how the endogenous clock-work system operates and how it drives evident cycles in behaviour and physiology in humans.

In conclusion, clinical and experimental studies demonstrate that disturbing rhythms has direct adverse consequences on cardiac physiology and pathophysiology. Future studies will undoubtedly provide new insights into the mechanisms and molecular pathways that drive these pathologies (ALIBHAI *et al.*, 2015) although the lifestyle's changes may have a role in the incidence of some diseases, like cardiovascular events.

Also, the knowledge on the clock machinery holds promises for the development of new treatment or improvement of existent medical treatments increasing drug efficacy and tolerability and reducing adverse effects that will hopefully improve the treatment and survival of patients with cardiovascular disease (CRNKO *et al.*, 2019, PILORZ *et al.*, 2018).

Circadian biology has waited decades to emerge as a complementary and inclusive scientific discipline capable of bridging molecular genetics, biochemistry, physiology, pharmacology, pathology, and clinical research to improve patients' lives (SELFRIEDGE *et al.*, 2016).

IX. Bibliographic References

- ALBERS, H. E., WALTON, J. C., GAMBLE, K. L., MCNEILL, J. K. TH, HUMMER, D. L. - The dynamics of GABA signaling: Revelations from the circadian pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Front Neuroendocrinol.* 44. (2017) 35-82.
- ALIBHAI, F. J., TSIMAKOURIDZE, E. V., REITZ, C. J., PYLE, W. G., MARTINO, T. A. - Consequences of Circadian and Sleep Disturbances for the Cardiovascular System. *Can J Cardiol.* 31. 7 (2015) 860-72.
- ANAFI, RON C, PELLEGRINO, RENATA, SHOCKLEY, KEITH R, ROMER, MICAH, TUFIK, SERGIO, PACK, ALLAN I - Sleep is not just for the brain: transcriptional responses to sleep in peripheral tissues. *BMC Genomics* 14. (2013) 362.
- ANDERSON, J. L., MORROW, D. A. - Acute Myocardial Infarction. *N Engl J Med.* 376. 21 (2017) 2053-2064.
- ANEA, CIPRIAN B., ZHANG, MAOXIANG, STEPP, DAVID W., SIMKINS, G. BRYAN, REED, GUY, FULTON, DAVID J., RUDIC, R. DANIEL - Vascular Disease in Mice With a Dysfunctional Circadian Clock. *Circulation.* 119. (2009) 1510-1517.
- BALLESTA, A., INNOMINATO, P. F., DALLMANN, R., RAND, D. A., LEVI, F. A. - Systems Chronotherapeutics. *Pharmacol Rev.* 69. 2 (2017) 161-199.
- BECKETT, M., RODEN, L.C. - Mechanisms by which circadian rhythm disruption may lead to cancer. *South African Journal of Science.* 105. 11-12 (2009) 415-420.
- BOLLINGER, THOMAS, SCHIBLER, UELI - Circadian rhythms – from genes to physiology and disease. *Swiss Med Wkly.* 144:w13984. (2014).
- BORGS, L., BEUKELAERS, P., VANDENBOSCH, R., BELACHEW, S., NGUYEN, L., MALGRANGE, B. - Cell "circadian" cycle: new role for mammalian core clock genes. *Cell Cycle.* 8. 6 (2009) 832-837.
- BUURMA, M., VAN DIEMEN, J. J. K., THIJS, A., NUMANS, M. E., BONTEN, T. N. - Circadian Rhythm of Cardiovascular Disease: The Potential of Chronotherapy With Aspirin. *Front Cardiovasc Med.* 6. (2019) 84.
- CRNKO, S., COUR, M., VAN LAAKE, L. W., LECOUR, S. - Vasculature on the clock: Circadian rhythm and vascular dysfunction. *Vascul Pharmacol.* 108. (2018) 1-7.

- CRNKO, S., DU PRE, B. C., SLUIJTER, J. P. G., VAN LAAKE, L. W. - Circadian rhythms and the molecular clock in cardiovascular biology and disease. *Nat Rev Cardiol.* 16. 7 (2019) 437-447.
- CURTIS, ANNE M., CHENG, YAN, KAPOOR, SHIV, REILLY, DERMOT, PRICE, TOM S., FITZGERALD, GARRET A. - Circadian variation of blood pressure and the vascular response to asynchronous stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104. (2007) 3450-3455.
- DOUMA, L. G., GUMZ, M. L. - Circadian clock-mediated regulation of blood pressure. *Free Radic Biol Med.* 119. (2018) 108-114.
- DURGAN, D. J., YOUNG, M. E. - The cardiomyocyte circadian clock: emerging roles in health and disease. *Circ Res.* 106. 4 (2010) 647-58.
- DZAU, V. J., BALATBAT, C. A. - Future of Hypertension. *Hypertension.* 74. 3 (2019) 450-457.
- FABBIAN, F., BHATIA, S., DE GIORGI, A., MAIETTI, E., BHATIA, S., SHANBHAG, A., DESHMUKH, A. - Circadian Periodicity of Ischemic Heart Disease: A Systematic Review of the Literature. *Heart Fail Clin.* 13. 4 (2017) 673-680.
- FUHR, L., ABREU, M., PETT, P., RELOGIO, A. - Circadian systems biology: When time matters. *Comput Struct Biotechnol J.* 13. (2015) 417-26.
- GAMALDO, CHARLENE E., CHUNG, YOUJIN, KANG, YU MIN, SALAS, RACHEL MARIE E. - Tick-tock-tick-tock: the impact of circadian rhythm disorders on cardiovascular health and wellness. *Journal of the American Society of Hypertension* 8. 12 (2014) 921-929.
- GAMBLE, K. L., BERRY, R., FRANK, S. J., YOUNG, M. E. - Circadian clock control of endocrine factors. *Nat Rev Endocrinol.* 10. 8 (2014) 466-75.
- GROSSMAN, E., LAUDON, M., ZISAPEL, N. - Effect of melatonin on nocturnal blood pressure: meta-analysis of randomized controlled trials. *Vasc Health Risk Manag.* 7. (2011) 577-84.
- HAND, L. E., HOPWOOD, T. W., DICKSON, S. H., WALKER, A. L., LOUDON, A. S., RAY, D. W., BECHTOLD, D. A., GIBBS, J. E. - The circadian clock regulates inflammatory arthritis. *FASEB J.* 30. 11 (2016) 3759-3770.
- HERMIDA, R. C., AYALA, D. E., FERNANDEZ, J. R., MOJON, A., CRESPO, J. J., RIOS, M. T., SMOLENSKY, M. H. - Bedtime Blood Pressure Chronotherapy Significantly Improves Hypertension Management. *Heart Fail Clin.* 13. 4 (2017) 759-773.

- HERMIDA, R. C., AYALA, D. E., MOJON, A., FERNANDEZ, J. R. - Influence of circadian time of hypertension treatment on cardiovascular risk: results of the MAPEC study. *Chronobiol Int.* 27. 8 (2010a) 1629-51.
- HERMIDA, R. C., AYALA, D. E., SMOLENSKY, M. H., FERNANDEZ, J. R., MOJON, A., PORTALUPPI, F. - Chronotherapy with conventional blood pressure medications improves management of hypertension and reduces cardiovascular and stroke risks. *Hypertens Res.* 39. 5 (2015) 277-92.
- HERMIDA, RAMÓN C., AYALA, DIANA E. - Chronotherapy With the Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Ramipril in Essential Hypertension Improved Blood Pressure Control With Bedtime Dosing. *Hypertension.* 54. (2009) 40-46.
- HERMIDA, RAMÓN C., AYALA, DIANA E., FERNÁNDEZ, JOSÉ R., CALVO, CARLOS - Comparison of the Efficacy of Morning Versus Evening Administration of Telmisartan in Essential Hypertension. *Hypertension.* 50. (2007) 715-722.
- HERMIDA, RAMÓN C., AYALA, DIANA E., FONTAO, MARÍA J., MOJÓN, ARTEMIO, FERNÁNDEZ, JOSÉ R. - Chronotherapy with valsartan/amlodipine fixed combination: Improved blood pressure control of essential hypertension with bedtime dosing. *Chronobiology International.* 27. 6 (2010b) 1287-1303.
- HERMIDA, RAMÓN C., AYALA, DIANA E., SMOLENSKY, MICHAEL H., MOJÓN, ARTEMIO, FERNÁNDEZ, JOSÉ R., CRESPO, JUAN J., MOYÁ, ANA, RÍOS, MARÍA T., PORTALUPPI, FRANCESCO - Chronotherapy improves blood pressure control and reduces vascular risk in CKD. *Nat. Rev. Nephrol.* . 9. (2013) 358-368.
- HERMIDA, RAMÓN C., AYALAA, DIANA E., CALVOB, CARLOS - Administration-time-dependent effects of antihypertensive treatment on the circadian pattern of blood pressure. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 14. (2005) 453-459.
- HIDA, AKIKO, KITAMURA, SHINGO, MISHIMA, KAZUO - Pathophysiology and pathogenesis of circadian rhythm sleep disorders. *Journal of Physiological Anthropology.* 31. 7 (2012).
- HONMA, SATO - The mammalian circadian system: a hierarchical multi-oscillator structure for generating circadian rhythm. *The Journal of Physiological Sciences.* 68. 3 (2018) 207-219.

- JAGANNATH, A., TAYLOR, L., WAKAF, Z., VASUDEVAN, S. R., FOSTER, R. G. - The genetics of circadian rhythms, sleep and health. *Hum Mol Genet.* 26. R2 (2017) R128-R138.
- KERVEZEE, L., KOSMADOPOULOS, A., BOIVIN, D. B. - Metabolic and cardiovascular consequences of shift work: The role of circadian disruption and sleep disturbances. *Eur J Neurosci.* (2018).
- KHAPER, N., BAILEY, C. D. C., GHUGRE, N. R., REITZ, C., AWOSANMI, Z., WAINES, R., MARTINO, T. A. - Implications of disturbances in circadian rhythms for cardiovascular health: A new frontier in free radical biology. *Free Radic Biol Med.* 119. (2018) 85-92.
- KOJETIN, D. J., BURRIS, T. P. - REV-ERB and ROR nuclear receptors as drug targets. *Nat Rev Drug Discov.* 13. 3 (2014) 197-216.
- KUMAR, PRASANNA V. ASHOK, DAKUPA, PANSHAK P., SARKARA, SOUMYADEEP, MODASIAA, JINITA B., MOTZNERA, MADISON S., GADDAMEEDHIA, SHOBHAN - It's About Time: Advances in Understanding the Circadian Regulation of DNA Damage and Repair in Carcinogenesis and Cancer Treatment Outcomes. *Yale Journal of Biology and Medicine.* 92. (2019) pp.305-316.
- LEFTA, M., CAMPBELL, K. S., FENG, H. Z., JIN, J. P., ESSER, K. A. - Development of dilated cardiomyopathy in Bmal1-deficient mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 303. 4 (2012) H475-85.
- LIU, A. C., LEWIS, W. G., KAY, S. A. - Mammalian circadian signaling networks and therapeutic targets. *Nat Chem Biol.* 3. 10 (2007) 630-9.
- LOGAN, RYAN W., MCCLUNG, COLLEEN A. - Rhythms of life: circadian disruption and brain disorders across the lifespan. *Nature Reviews | Neuroscience.* 20. (2018) 49-65.
- MAEMURA, KOJI, TAKEDA, NORIHIKO, NAGAI, RYOZO - Circadian Rhythms in the CNS and Peripheral Clock Disorders: Role of the Biological Clock in Cardiovascular Diseases. *J Pharmacol Sci* 103. 2 (2007) 134-138
- MANFREDINI, R., FABBIAN, F., GIORGI, A. DE, B. ZUCCHI, CAPPADONA, R., SIGNANI, F., KATSIKI, N., MIKHAILIDIS, D.P. - Daylight saving time and myocardial infarction: should we be worried? A review of the evidence. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 22. (2018) 750-755.

- MARTINO, TAMI A., YOUNG, MARTIN E. - Influence of the Cardiomyocyte Circadian Clock on Cardiac Physiology and Pathophysiology. *Journal of Biological Rhythms*. 30. 3 (2015) 183-205.
- MASUKI, SHIZUE, TODO, TAKESHI, NAKANO, YASUSHI, OKAMURA, HITOSHI, NOSE, HIROSHI - Reduced α -adrenoceptor responsiveness and enhanced baroreflex sensitivity in Cry-deficient mice lacking a biological clock. *J Physiol*. 566 (pt 1). (2005) 213-224.
- MAURY, E., RAMSEY, K. M., BASS, J. - Circadian rhythms and metabolic syndrome: from experimental genetics to human disease. *Circ Res*. 106. 3 (2010) 447-62.
- MISTRY, P., DUONG, A., KIRSHENBAUM, L., MARTINO, T. A. - Cardiac Clocks and Preclinical Translation. *Heart Fail Clin*. 13. 4 (2017) 657-672.
- MORRIS, C. J., PURVIS, T. E., HU, K., SCHEER, F. A. - Circadian misalignment increases cardiovascular disease risk factors in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 113. 10 (2016) E1402-11.
- MORRIS, C. J., YANG, J. N., SCHEER, F. A. - The impact of the circadian timing system on cardiovascular and metabolic function. *Prog Brain Res*. 199. (2012) 337-58.
- OHDO, S., KOYANAGI, S., MATSUNAGA, N. - Chronopharmacological strategies focused on chrono-drug discovery. *Pharmacol Ther*. (2019).
- OISHI, K., MIYAZAKI, K., UCHIDA, D., OHKURA, N., WAKABAYASHI, M., DOI, R., MATSUDA, J., ISHIDA, N. - PERIOD2 is a circadian negative regulator of PAI-1 gene expression in mice. *J Mol Cell Cardiol*. 46. 4 (2009) 545-52.
- OKAMURA, H., DOI, M., FUSTIN, J. M., YAMAGUCHI, Y., MATSUO, M. - Mammalian circadian clock system: Molecular mechanisms for pharmaceutical and medical sciences. *Adv Drug Deliv Rev*. 62. 9-10 (2010) 876-84.
- PANDI-PERUMAL, SEITHIKURIPPU R., BAHAMMAM, AHMED S., OJIKE, NWAKILE I., AKINSEYE, OLUWASEUN A., KENDZERSKA, TETYANA, BUTTOO, KENNETH, DHANDAPANY, PERUNDURAI S., BROWN, GREGORY M., CARDINALI, DANIEL P. - Melatonin and Human Cardiovascular Disease. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 22. 2 (2016).
- PASCHOS, G. K., FITZGERALD, G. A. - Circadian clocks and vascular function. *Circ Res*. 106. 5 (2010) 833-41.

- PILORZ, V., HELFRICH-FORSTER, C., OSTER, H. - The role of the circadian clock system in physiology. *Pflugers Arch.* 470. 2 (2018) 227-239.
- PODOBED, PETER S., ALIBHAI, FAISAL J., CHOW, CHI-WING, MARTINO, TAMI A. - Circadian Regulation of Myocardial Sarcomeric Titin-cap (Tcap, Telethonin): Identification of Cardiac Clock- Controlled Genes Using Open Access Bioinformatics Data. *PLoS ONE* 9. 8 (2014) e104907.
- RABINOVICH-NIKITIN, I., LIEBERMAN, B., MARTINO, T. A., KIRSHENBAUM, L. A. - Circadian-Regulated Cell Death in Cardiovascular Diseases. *Circulation.* 139. 7 (2019) 965-980.
- REED, GRANT W., ROSSI, JEFFREY E., CANNON, CHRISTOPHER P. - Acute myocardial infarction. *The Lancet.* 389. 10065 (2017) 197-210.
- REUTRAKUL, S., KNUTSON, K. L. - Consequences of Circadian Disruption on Cardiometabolic Health. *Sleep Med Clin.* 10. 4 (2015) 455-68.
- RORIE, D. A., ROGERS, A., MACKENZIE, I. S., FORD, I., WEBB, D. J., WILLIAMS, B., BROWN, M., POULTER, N., FINDLAY, E., SAYWOOD, W., MACDONALD, T. M. - Methods of a large prospective, randomised, open-label, blinded end-point study comparing morning versus evening dosing in hypertensive patients: the Treatment In Morning versus Evening (TIME) study. *BMJ Open.* 6. 2 (2016) e010313.
- RÜGER, MELANIE, SCHEER, FRANK A. J. L. - Effects of circadian disruption on the cardiometabolic system. *Rev Endocr Metab Disord* 10. 4 (2009) 245-260.
- SAITO, TOSHIRO - The vascular clock system generates the intrinsic circadian rhythm of vascular contractility. *J. Smooth Muscle Res.* 51. (2015) 95-106.
- SELFRIDGE, J. M., GOTOH, T., SCHIFFHAUER, S., LIU, J., STAUFFER, P. E., LI, A., CAPELLUTO, D. G., FINKIELSTEIN, C. V. - Chronotherapy: Intuitive, Sound, Founded...But Not Broadly Applied. *Drugs.* 76. 16 (2016) 1507-1521.
- STAMOS, THOMAS D. - Overview of Cardiomyopathies. *MSD Manual Professional Version*, 2018. [Consultado a 6 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.msdmanuals.com/ptpt/profissional/doen%C3%A7ascardiovasculares/cardiomiopias/vis%C3%A3o-geral-das-cardiomiopias>.
- STOW, L. R., GUMZ, M. L. - The circadian clock in the kidney. *J Am Soc Nephrol.* 22. 4 (2011) 598-604.

- STRANGES, P. M., DREW, A. M., RAFFERTY, P., SHUSTER, J. E., BROOKS, A. D. - Treatment of hypertension with chronotherapy: is it time of drug administration? *Ann Pharmacother.* 49. 3 (2015) 323-34.
- SUN, H., GUSDON, A. M., QU, S. - Effects of melatonin on cardiovascular diseases: progress in the past year. *Curr Opin Lipidol.* 27. 4 (2016) 408-13.
- TAHARA, Y., SHIBATA, S. - Circadian rhythms of liver physiology and disease: experimental and clinical evidence. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 13. 4 (2016) 217-26.
- TAKEDA, A., TODA, T., FUJII, T., MATSUI, N. - Bedtime administration of long-acting antihypertensive drugs restores normal nocturnal blood pressure fall in nondippers with essential hypertension. *Clin Exp Nephrol.* 13. 5 (2009) 467-472.
- TAKEDA, N., MAEMURA, K. - Circadian clock and the onset of cardiovascular events. *Hypertens Res.* 39. 6 (2016) 383-90.
- TAKEDA, NORIHIKO, MAEMURA, KOJI - Circadian clock and cardiovascular disease. *J Cardiol.* 57. 3 (2011) 249-256.
- TAKEDA, NORIHIKO, MAEMURA, KOJI - The role of clock genes and circadian rhythm in the development of cardiovascular diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 72. 17 (2015) 3225-3234.
- TOBALDINI, ELEONORA, FIORELLI, ELISA M., SOLBIATI, MONICA, COSTANTINO, GIORGIO, NOBILI, LINO, MONTANO, NICOLA - Short sleep duration and cardiometabolic risk: from pathophysiology to clinical evidence. *Nature Reviews Cardiology.* (2018) 213-224.
- VISWAMBHARAN, HEMA, CARVAS, JOÃO M., ANTIC, VLADAN, MARECIC, ANA, JUD, CORINNE, ZAUGG, CHRISTIAN E., MING, XIU-FEN, MONTANI, JEAN-PIERRE, ALBRECHT, URS, YANG, ZHIHONG - Mutation of the Circadian Clock Gene *Per2* Alters Vascular Endothelial Function. *Circulation.* 115. (2007) 2188-2195.
- VYAS, MANAV V, GARG, AMIT X, V, ARTHUR, COSTELLA, JOHN, DONNER, ALLAN, LAUGSAND, LARS E, JANSZKY, IMRE, MRKOBRAHA, MARKO, PARRAGA, GRACE, HACKAM, DANIEL G - Shift work and vascular events: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 345. e4800 (2012).
- WANG, C. Y., WEN, M. S., WANG, H. W., HSIEH, I. C., LI, Y., LIU, P. Y., LIN, F. C., LIAO, J. K. - Increased vascular senescence and impaired endothelial progenitor cell function mediated by mutation of circadian gene *Per2*. *Circulation.* 118. 21 (2008) 2166-73.

- WESTGATE, E. J., CHENG, Y., REILLY, D. F., PRICE, T. S., WALISSER, J. A., BRADFIELD, C. A., FITZGERALD, G. A. - Genetic components of the circadian clock regulate thrombogenesis in vivo. *Circulation*. 117. 16 (2008) 2087-95.
- WONG, C. X., BROWN, A., LAU, D. H., CHUGH, S. S., ALBERT, C. M., KALMAN, J. M., SANDERS, P. - Epidemiology of Sudden Cardiac Death: Global and Regional Perspectives. *Heart Lung Circ*. 28. 1 (2019) 6-14.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - Cardiovascular diseases (CVDs). 2017. [Consultado a 12 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - The top 10 causes of death. 2018. [Consultado a 12 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - Hypertension. 2019. [Consultado a 12 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>.
- XU, YANYAN, PI, WENHU, RUDIC, R. D. - Old and New Roles and Evolving Complexities of Cardiovascular Clocks. *YALE JOURNAL OF BIOLOGY AND MEDICINE* 92. (2019) 283-290.
- YOUNG, M. E. - The circadian clock within the heart: potential influence on myocardial gene expression, metabolism, and function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 290. 1 (2006) H1-16.
- YOUNG, M. E., BREWER, R. A., PELICIARI-GARCIA, R. A., COLLINS, H. E., HE, L., BIRKY, T. L., PEDEN, B. W., THOMPSON, E. G., AMMONS, B. J., BRAY, M. S., CHATHAM, J. C., WENDE, A. R., YANG, Q., CHOW, C. W., MARTINO, T. A., GAMBLE, K. L. - Cardiomyocyte-specific BMAL1 plays critical roles in metabolism, signaling, and maintenance of contractile function of the heart. *J Biol Rhythms*. 29. 4 (2014) 257-76.
- ZHANGA, RAY, LAHENZA, NICHOLAS F., BALLANCEA, HEATHER I., HUGHESB, MICHAEL E., HOGENESCHA, JOHN B. - A circadian gene expression atlas in mammals: Implications for biology and medicine. *PNAS*. 111 45 (2014) 16219-16224.