



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Maria Teresa de Alcântara Dias Antunes

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Pharmacometabolomics and Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychiatric Drugs” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, da Dra. Ângela Delgado e da Professora Doutora Ana Fortuna, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2020



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Maria Teresa de Alcântara Dias Antunes

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Pharmacometabolomics and Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychiatric Drugs” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, da Dra. Ângela Delgado e da Professora Doutora Ana Fortuna, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2020

Eu, Maria Teresa de Alcântara Dias Antunes, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009115242, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Pharmacometabolomics and Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychiatric Drugs” 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, 15 de julho de 2020.

Maria Teresa de Alcântara Dias Antunes

(Maria Teresa de Alcântara Dias Antunes)

## **AGRADECIMENTOS**

*O primeiro agradecimento é para a equipa da Farmácia Santos que desde sempre acreditou em mim e me permitiu embarcar neste sonho, dando-me asas para voar sozinha. Se hoje me posso tornar Mestre em Ciências Farmacêuticas, a toda a equipa o devo.*

*Aos meus pais por sempre acreditarem em mim, por me darem força e coragem para nunca desistir e por me fazerem feliz. A Eles devo o meu futuro. À minha mãe-vó pelas palavras de conforto e alegria. Ao meu irmão por ter estado sempre presente. A toda a minha família agradeço as palavras de incentivo e felicitação.*

*À minha orientadora, Professora Doutora Ana Fortuna, agradeço todas as suas palavras de incentivo e coragem, as suas sugestões, a partilha de conhecimentos e toda a sua dedicação.*

*Às minhas amigas, por terem feito com o meu percurso académico estivesse sempre repleto de alegria e amizade e, em especial à Joana e à Inês, pelo companheirismo, pela entajuda, pelas gargalhadas, mas sobretudo, pela amizade verdadeira. Levo-vos comigo para a Vida.*

*Às minhas amigas e amigos de sempre, em especial à Patrícia e Carolina, por estarem sempre presentes, pela compreensão em todas as minhas ausências, por aceitarem as minhas escolhas sem nunca me julgar.*

*À equipa da Farmácia Santos, Ângela, Maria, Diana, Catarina, Sr. Batista e Dr. Carlos, agradeço-vos do fundo do coração todas as oportunidades, todos os votos de confiança e toda a amizade. Foram, sem dúvida, uma das razões para eu chegar até aqui. A ti, Ângela, agradeço toda a valiosa ajuda, dedicação, amizade e orientação. Maria, obrigada por teres estado sempre presente.*

*À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, por me ter acolhido tão bem e por me fazer sempre sentir como se estivesse em casa. D. Ana e Patrícia, admiro a vossa organização e método de trabalho, o meu Obrigada.*

*A Coimbra, agradeço todas as oportunidades, vivências e alegrias.*

*“Não te digo adeus, porque te levo sempre comigo”*

*Um bom livro é aquele que se abre com expectativa e que se fecha com proveito.*

*Avô Francisco*

## Índice

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

<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	<b>9</b>
<b>1. Introdução</b> .....	<b>10</b>
<b>2. Análise SWOT</b> .....	<b>11</b>
2.1. Pontos Fortes ( <i>Strenghts</i> ) .....	11
2.1.1. Acessibilidade e Facilidade de Estacionamento da Farmácia .....	11
2.1.2. Integração na Equipa da Farmácia Santos .....	12
2.1.3. Estruturação do Plano de Estágio.....	12
2.1.4. Fidelização de Utentes .....	14
2.1.5. Venda de Medicamentos e Produtos de Uso Veterinário .....	14
2.2. Pontos Fracos ( <i>Weaknesses</i> ).....	15
2.2.1. Utentes maioritariamente idosos .....	15
2.2.2. Localização da Farmácia.....	15
2.2.3. Venda de Produtos de Dermocosmética .....	15
2.3. Oportunidades ( <i>Opportunities</i> ) .....	16
2.3.1. Realização de Testes de <i>Check-up</i> de Saúde.....	16
2.3.2. Acompanhamento da Terapêutica .....	16
2.3.3. Modelo de Gestão <i>Kaizen</i> .....	17
2.3.4. Participação em Ações de Formação .....	18
2.4. Ameaças ( <i>Threats</i> ) .....	19
2.4.1. Medicamentos Esgotados .....	19
2.4.2. Solicitação Abusiva de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica .....	20
2.4.3. Covid-19.....	20
<b>3. Casos Práticos</b> .....	<b>21</b>
<b>4. Conclusão e Perspetivas Futuras</b> .....	<b>25</b>
<b>5. Referências</b> .....	<b>26</b>

### PARTE II – Monografia – Pharmacometabolomics and Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychiatric Drugs

<b>Abstract</b> .....	<b>29</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>30</b>
<b>List of Abbreviations</b> .....	<b>31</b>
<b>1. Introduction</b> .....	<b>32</b>
<b>2. Metabolomics and Pharmacometabolomics</b> .....	<b>35</b>
2.1. Pharmacometabolomics Informs Pharmacokinetics.....	37
<b>3. Pharmacometabolomics in the Neuropsychiatric Diseases</b> .....	<b>40</b>

3.1. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors.....	41
3.2. Metabolomics as a Guide for Ketamine Therapy .....	46
<b>4. Pharmacometabolomics-informed Pharmacogenomics research strategy .....</b>	<b>48</b>
<b>5. Conclusion.....</b>	<b>50</b>
<b>6. References.....</b>	<b>51</b>

# PARTE I

## RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA



**farmácia**santos

Orientadora: Dra. Ângela Filipa Carvalho Delgado



## **Lista de Abreviaturas**

<b>FS</b>	Farmácia Santos
<b>MICF</b>	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
<b>MNSRM</b>	Medicamento Não Sujeito a Receita Médica
<b>MSRM</b>	Medicamento Sujeito a Receita Médica
<b>SWOT</b>	<i>Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats</i> / Forças, Fraquezas, Oportunidades e Ameaças

## **I. Introdução**

Em Portugal, a Profissão Farmacêutica teve início há largos anos, quando os farmacêuticos eram então designados por boticários<sup>1</sup> e as farmácias, hoje mais conhecidas por farmácias comunitárias, designadas por farmácias de oficina. Nos dias de hoje, o farmacêutico assume funções diferentes das que desempenhava anteriormente, sendo que a preparação officinal de medicamentos e substâncias medicamentosas deixou de ser uma prática diária, devido ao avanço da tecnologia farmacêutica. Como profissional de saúde do medicamento, cabe ao farmacêutico assegurar o uso racional do mesmo, fornecendo ao doente todas as informações necessárias para a sua correta utilização.

A Farmácia Comunitária é uma das áreas profissionais do farmacêutico e também a que envolve uma visão muito mais centrada no doente. O Farmacêutico é o profissional de saúde que está mais perto da população e a quem esta mais recorre por problemas de saúde. A mais-valia desta profissão parece ser indiscutível ao longo das várias gerações, tornando possível que grande parte das pessoas o encare como alguém sempre disponível e capaz de lidar com questões mais sensíveis e complexas. Em determinadas zonas do interior de Portugal, os recursos disponíveis em termos de cuidados de saúde são muito limitados e os que existem, por vezes, não permitem que pessoas mais idosas ou com poucos recursos económicos tenham facilmente acesso a um serviço de urgência. Nesse sentido, a Farmácia Comunitária passa a ser encarada como uma porta sempre aberta, com profissionais de saúde aptos para resolver situações de saúde consideradas menores e intervir sempre que existam critérios que motivem a referência para uma consulta médica. Por outro lado, o farmacêutico está capacitado para informar, intervir e monitorizar áreas como a gestão da terapêutica, o aconselhamento farmacêutico, a administração de vacinas e injetáveis, a determinação de parâmetros bioquímicos, a identificação de população de risco, entre outros. Por todos estes motivos, o farmacêutico tem um papel preponderante para a promoção da literacia em saúde, do bem-estar da população e da sua qualidade de vida.

A unidade curricular “Estágio” encerra o 5º ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, local onde tive o enorme privilégio de me formar enquanto estudante e pessoa. Visa, portanto, a integração e consolidação da aprendizagem teórica com a prática profissional. Durante a minha formação universitária foram-me transmitidos valiosos conhecimentos com vista a serem, agora, aplicados. Todavia, a aquisição de competências surge quando nos confrontamos com situações práticas, mais não seja, pela profissão farmacêutica ser pautada por uma relação de proximidade, confiança e, muitas vezes, afeto. Mais do que uma última prova de

conhecimentos, esta unidade curricular encerra o nosso percurso enquanto estudantes, mas inicia o nosso longo caminho enquanto profissionais de saúde que se espera risonho.

O presente relatório visa retratar o meu Estágio Curricular em Farmácia Comunitária, o qual teve início no dia 6 de janeiro de 2020 e término no dia 10 de julho de 2020, encontrando-se suspenso desde 13 de março de 2020 a 4 de maio de 2020. O estágio foi realizado na Farmácia Santos, em Oliveira do Hospital, com a duração total de 810 horas, orientado pela Dra. Ângela Filipa Carvalho Delgado.

## **2. Análise SWOT**

Com vista a fazer uma análise crítica da unidade curricular, Estágio, do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, foi-me solicitada a realização de uma análise SWOT. Este tipo de análise engloba uma dimensão interna, que compreende os pontos fortes (*Strengths*) e pontos fracos (*Weaknesses*), envolvendo também uma dimensão externa na qual se destacam as oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*).

### **2.1. Pontos Fortes (*Strengths*)**

#### **2.1.1. Acessibilidade e Facilidade de Estacionamento da Farmácia**

A Farmácia Santos (FS) situa-se na cidade de Oliveira do Hospital, distrito de Coimbra, mais precisamente na Rua João Rodrigues Lagos nº3. Até ao ano de 2009, a FS situava-se no Seixo da Beira, uma freguesia do concelho de Oliveira do Hospital, sendo que nesse mesmo ano foi transferida para a morada acima mencionada. A FS, uma das quatro farmácias existentes na cidade de Oliveira do Hospital, possui bons acessos e uma enorme facilidade de estacionamento, o que faz com que muitos dos seus utentes não sejam unicamente residentes nas proximidades.

O horário de funcionamento da FS é das 9h às 20h durante a semana e aos sábados das 9h às 13h, exceto quando está de serviço, que está aberta 24 horas. Destaco a oportunidade de ter estagiado aos sábados e durante a escala de serviço da farmácia, uma vez que me permitiu contactar com diferentes realidades no que respeita à intervenção farmacêutica. Neste contexto, contactei com utentes de diversas faixas etárias, que se dirigiram à farmácia com diferentes abordagens, contribuindo para pôr em prática grande parte dos conhecimentos adquiridos ao longo do MICF, e, desse modo, desenvolver competências que serão fundamentais enquanto futura profissional de saúde.

### **2.1.2. Integração na Equipa da Farmácia Santos**

Assim que pensei na escolha da farmácia para a realização do estágio curricular do MICF, a FS foi, desde sempre, a minha primeira opção. Durante o meu percurso académico, realizei estágios de verão na FS, os quais tiveram um grande peso na minha decisão. Como seria expectável, o facto de já conhecer toda a equipa e o seu método de trabalho, tornou o meu processo de aprendizagem, adaptação e autoconfiança mais simples e fácil. A sua equipa jovem, simpática, prestável e dinâmica foi essencial para que eu conseguisse superar barreiras e eliminar fraquezas, tão características desta fase. O atendimento ao público, por parte de cada colaborador, sempre focado no doente, na promoção da sua saúde e bem-estar, tratando-o com toda a delicadeza, profissionalismo e valorização fizeram com que estivesse, diariamente, feliz com a escolha feita. Desde o meu primeiro estágio realizado na FS, todos os elementos da equipa, me transmitiram um processo de aprendizagem contínuo, espírito crítico, humildade e, sobretudo, capacidade de trabalho em equipa, tornando claro que sozinha até posso ir mais rápido, mas em equipa irei mais longe.

### **2.1.3. Estruturação do Plano de Estágio**

Numa fase inicial do estágio, contactei com diferentes áreas como o aprovisionamento, armazenamento e gestão de medicamentos e produtos de saúde e bem-estar. Esta fase de *back-office* tornou-se muito importante, não só para me familiarizar com os medicamentos e produtos de saúde e bem-estar mais comercializados pela FS, mas também porque é uma das tarefas que, diariamente, mais exige concentração, rigor e método de trabalho, uma vez que, poderá levar a erros com consequências negativas para a gestão da farmácia. Por outro lado, foi possível relembrar inúmeros princípios ativos e as suas principais indicações terapêuticas.

No processo de aprovisionamento diário dos medicamentos, em primeiro lugar, deve-se prestar atenção para os baques provenientes dos distribuidores habituais e identificar os que correspondem à mesma encomenda. Seguidamente, no programa Sifarma 2000<sup>®</sup> é selecionado o número de encomenda pretendido e inicia-se a sua receção com a respetiva fatura. Na receção de encomendas, propriamente dita, prevalece a entrada dos produtos de frio, que são primeiramente arrumados e seguidamente todos os outros produtos. Verifica-se o prazo de validade de cada um dos produtos recebidos bem como o Preço Impresso na Cartonagem (PIC). Caso o produto não contenha PIC, é considerado um produto de marcação. Após confirmar se o número de produtos recebido coincide com o que consta na fatura, procede-se à verificação do preço de faturação de cada produto e, posteriormente, à colocação do Preço de Venda ao Público (PVP). No que ao processo de armazenamento diz respeito, um dos aspetos mais importantes é a regra “*first-expired, first-out*”, ou seja, os que

contêm o menor prazo de validade são os que são arrumados mais à frente e, portanto, os primeiros a serem dispensados.

Numa fase posterior tive a oportunidade de exercer tarefas na área da gestão do medicamento. A gestão de *stock* dos diferentes produtos e dos seus prazos de validade é um dos pontos críticos da gestão da farmácia e que exige uma atenção diária por parte de todos os colaboradores. A título de exemplo, os produtos em *stock* na farmácia representam capital já investido que deve ser rentabilizado e, portanto, a lista de produtos cujos prazos de validade vão expirar nos próximos meses merece especial atenção. Por outro lado, no atendimento ao público é de extrema importância garantir que existe em *stock* os medicamentos e produtos de saúde e bem-estar, em quantidade suficiente, para garantir e satisfazer as necessidades dos utentes. Para tal, é necessário fazer uma rigorosa avaliação do *stock* mínimo e máximo que cada um dos produtos deve ter, bem como a escolha criteriosa de fornecedores que garantam a sua entrega e ao mesmo tempo uma boa rentabilidade para a farmácia.

A gestão de devoluções também foi um dos pontos que mereceu destaque no decorrer do meu estágio. As devoluções podem ser feitas por diferentes motivos entre os quais se salientam, embalagens danificadas, produtos retirados do mercado pelo laboratório, produtos fora do prazo de validade, entre outros. É, portanto, uma tarefa que exige rigor e uma criteriosa avaliação dos motivos que a justificam.

Embora o atendimento ao público fosse a etapa do estágio que considerava mais entusiasmante e desafiante, nos primeiros tempos, apenas fazia o seu acompanhamento de uma forma observacional, estando sempre atenta à sua condução. Durante esta fase de observação de atendimentos, constatei que estes sempre se pautaram por uma comunicação clara e objetiva na veiculação da informação para o doente. Para além da informação inerente ao correto uso do medicamento, as medidas farmacológicas, bem como as medidas não farmacológicas eram, sempre que necessário, transmitidas.

Mais tarde, iniciei o atendimento ao público de forma autónoma e, numa fase inicial, a minha intervenção centrou-se maioritariamente nas afeções menores do sistema respiratório. O principal tipo de aconselhamento farmacêutico incidia na venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) para o sistema respiratório relacionada com gripe e constipação. Portanto, houve prontamente um encadeamento com a unidade curricular de Indicação Farmacêutica na qual foram abordados aspetos teóricos muito úteis para aplicar nesta etapa. Visto que nos meses de inverno são frequentemente prescritos antibióticos, tanto para adultos como para crianças, a preparação deste tipo de medicamentos faz parte do quotidiano da FS, visando garantir a sua correta manipulação. A preparação de soluções extemporâneas, nomeadamente de alguns antibióticos, que são comercializados sob a forma de pó para suspensão

oral, de como é exemplo o Clavamox ES<sup>®3</sup> é feita, primeiramente, com recurso à adição de uma certa quantidade de água purificada e posterior agitação, sendo este passo determinante para garantir uma correta diluição. Embora pareça um processo simples e fácil de executar, muitas das pessoas reconhecem a mais-valia de ser um profissional de saúde a fazê-lo, evitando algum tipo de erro na sua preparação. As principais condições de conservação de cada medicamento são também transmitidas ao utente aquando da dispensa do medicamento. Descrevo, na secção 3, alguns casos práticos experienciados por mim durante o estágio.

#### **2.1.4. Fidelização de Utentes**

A maioria da população do concelho de Oliveira do Hospital é envelhecida, razão pela qual a grande parte dos utentes da FS são idosos. Caracteriza-se, sobretudo, por uma população polimedicada<sup>2</sup>, o que faz com que no momento da dispensa de qualquer medicamento ou produto de saúde e bem-estar, haja uma atenção extrema, por parte de toda a equipa da FS. Patologias como Alzheimer, Diabetes, Hipertensão arterial, Doença de *Crohn*, doenças do foro neurológico e psíquico são exemplos de patologias comuns desta população.

Todavia, não apenas pela população ser, em grande parte, idosa, mas também pelas urgências no concelho de Oliveira do Hospital serem deficitárias, leva a que os cidadãos, num primeiro momento, recorram à farmácia para solicitar uma opinião ou esclarecer alguma dúvida. Deste modo, cria-se uma relação pessoal que é a base de fidelização de um utente, sendo uma das razões que o faz voltar à farmácia. No entanto, o que diferencia cada atendimento é a qualidade da informação veiculada e o aconselhamento prestado. Destaco todos os colaboradores da FS, pelo seu profissionalismo, rigor, atenção, simpatia e apresentação, atendimento exímio e personalizado, aconselhamento farmacêutico consciente e criterioso, que sem sombra de dúvida se reflete na fidelização dos seus utentes. Há, nitidamente, uma relação de confiança e proximidade entre farmacêutico-doente, fortalecida e enriquecida pela equipa ser a mesma há vários anos. Neste contexto, percecionei uma relação farmacêutico-doente forte, fruto da confiança e amizade construída ao longo dos anos, que contribuiu para que eu enquanto estagiária do MICEF, ambicionasse ainda mais o meu futuro em Farmácia Comunitária. Por outro lado, permitiu-me conhecer melhor os utentes bem como as suas famílias, as suas doenças e fragilidades, os seus hábitos de vida, tornando-me alguém em que eles próprios também passaram a confiar.

#### **2.1.5. Venda de Medicamentos e Produtos de Uso Veterinário**

Estando a FS localizada na pequena cidade de Oliveira do Hospital, mas inserida num meio rural, a venda de medicamentos para uso veterinário e outros produtos destinados à saúde animal tem bastante expressão. A venda desta categoria de produtos, no meu ponto de

vista, foi um dos grandes desafios do meu estágio, mas evidentemente também um dos que mais valorizo. Num meio tipicamente rural, onde muitos dos seus habitantes criam animais de quinta, medicamentos para uso animal são solicitados frequentemente e, aos farmacêuticos comunitários é-lhes exigido um desafiante e permanente conhecimento das patologias que assolam os animais. Por outro lado, a descrição dos problemas de saúde do animal é, muitas vezes, feita de acordo com termos da gíria popular o que implica que estejamos familiarizados com os mesmos.

Enalteço este ponto como um dos pontos fortes do meu estágio, pelo facto de ter oportunidade de me familiarizar com a área da saúde animal, particularmente, dos animais de quinta, que numa farmácia de uma grande cidade seria invulgar contactar.

## **2.2. Pontos Fracos (*Weaknesses*)**

### **2.2.1. Utentes maioritariamente idosos**

Como referido anteriormente, os utentes habituais da FS são, na sua maioria, idosos. Este ponto justifica que a principal percentagem de vendas incida nos Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM). Esta realidade tem como consequência uma menor procura de outros produtos de saúde e bem-estar, o que acaba por ter influência na minha experiência profissional nesta área em relação ao seu aconselhamento.

### **2.2.2. Localização da Farmácia**

Apesar da FS estar localizada num ponto de passagem, está afastada do centro da cidade de Oliveira do Hospital, dos principais estabelecimentos comerciais da cidade, do hospital, do centro de saúde, de clínicas médicas privadas, entre outros. Por estas razões, muitos dos utentes habituais da FS não residem na cidade, mas sim nos arredores da mesma. Nesse sentido, a localização da FS pode ter influência no número de utentes que visitam a mesma, relativamente a outras farmácias da cidade. Mais ainda, é relatado por alguns dos utentes que a FS acaba por estar deslocalizada do centro, o que assume particular importância quando esta está de serviço, afetando pessoas com maior dificuldade de deslocação.

### **2.2.3. Venda de Produtos de Dermocósmética**

Dentro da categoria de produtos de saúde e bem-estar encontram-se os produtos de dermocosmética. Particularmente na FS, este tipo de produtos não assume um número de vendas muito elevado. A falta de informação associada aos cuidados diários com a pele leva a que muitas pessoas encarem estes produtos como algo supérfluo. Os baixos rendimentos mensais dos utentes e uma população maioritariamente idosa podem, também, ser razões que

explicam o facto da sua venda não ser tão expressiva quanto desejável. Por outro lado, a existência dos mesmos artigos noutras espaços de saúde e a preços mais aliciantes, leva a que a FS não consiga competir com os mesmos. Nesse sentido, apesar de todas as formações que tive a oportunidade de presenciar, bem como orientações dadas pela equipa da FS, estou ciente que a área da dermocosmética é uma das áreas que mais exige formação contínua e experiência profissional.

## **2.3. Oportunidades (*Opportunities*)**

### **2.3.1. Realização de Testes de *Check-up* de Saúde**

Ao longo dos anos, a FS sempre ficou conhecida por prestar um serviço de excelência no que respeita à promoção de saúde e bem-estar dos seus utentes. Os *check-ups* de saúde de que são exemplos a determinação do colesterol total, da glicémia, dos triglicéridos, do ácido úrico e a medição da pressão arterial fazem parte da rotina diária desta farmácia e é notório que os seus utentes valorizam este serviço. A maioria destes testes são realizados na parte da manhã, também porque a determinação da glicémia e dos triglicéridos deve ser, preferencialmente, feita em jejum, mas também porque existe um afluxo muito elevado à farmácia por parte da população mais idosa neste período. Destaco a oportunidade de ter participado ativamente na realização de inúmeros *check-ups* de saúde, os quais enriqueceram a minha experiência enquanto estagiária e contribuíram para a minha formação enquanto futura profissional de saúde.

Colocar um serviço de *check-ups* de saúde à disposição dos utentes é uma mais-valia para a farmácia e para a população uma vez que permite que de uma forma rápida e simples sejam determinados parâmetros bioquímicos, sendo providenciado o posterior acompanhamento ao utente. Por outro lado, com este serviço não só é possível uma maior consciencialização dos utentes para hábitos de vida saudáveis, como permite fazer o seu acompanhamento e encaminhamento ao médico sempre que os resultados estão fora dos intervalos de referência. Todos os testes foram efetuados recorrendo ao instrumento de análise de sangue, Clini5, da Callegari 1930<sup>®</sup>. Este instrumento tem a capacidade de medição de 19 parâmetros bioquímicos e podem ser realizados simultaneamente 5 destes, o que revela uma enorme poupança de tempo<sup>4</sup>.

### **2.3.2. Acompanhamento da Terapêutica**

Uma vez que a FS dispõe de uma lista de utentes fiel e assídua, acompanhar o estilo de vida e os hábitos diários dos mesmos torna-se uma tarefa exigente, mas gratificante. A maioria das pessoas que diariamente visita a FS consta da sua lista de utentes e, por conseguinte,



através da ficha de cada utente, verifica-se qual o tipo de medicação habitual. Esta ferramenta é bastante utilizada sobretudo quando um utente se dirige à farmácia e não se recorda exatamente de quais os medicamentos ou marcas de medicamentos que toma, o que não se for tido em conta pode levar, por exemplo, a uma duplicação da terapêutica. Desse modo, surgem casos em que a pessoa está a tomar medicamentos de marcas diferentes, mas com a mesma substância ativa, estando a equipa da FS atenta a este tipo de situação. Contudo, sempre que seja solicitado aconselhamento farmacêutico ou surja alguma dúvida, caso a pessoa possua ficha na farmácia, é possível assegurar que os medicamentos que toma, não vão interagir com os que possam ser dispensados. A equipa da FS demonstra um grande empenho e dedicação especialmente quando se trata de utentes mais idosos, polimedicados, com um nível de literacia baixo ou mesmo analfabetas, pois apresentam dificuldades tanto na compreensão da indicação terapêutica dos medicamentos como na sua posologia.

### **2.3.3. Modelo de Gestão Kaizen**

O modelo de gestão *Kaizen* teve origem no Japão, mais precisamente depois da II Guerra Mundial<sup>5</sup>, quando houve necessidade de uma reestruturação da atividade económica e industrial naquele período. Consiste numa metodologia que visa baixar custos e melhorar a produtividade de uma empresa, sendo o sector farmacêutico, um dos casos de sucesso da gestão *Kaizen*<sup>6</sup>.

*Kaizen* significa mudar (Kai) melhor (Zen), portanto envolve uma melhoria contínua focada no: “*Hoje melhor do que ontem; amanhã melhor do que hoje*”. O *Kaizen* pode ser definido como um método de melhoria contínua<sup>5</sup> que assenta em três diferentes pilares: deteção de erros (como exemplo os erros de *stock*), melhoria da qualidade de atendimento ao utente e a rentabilidade da farmácia. O modelo de gestão *Kaizen* passa por uma mudança de hábitos e rotinas, mas muito particularmente, uma mudança centrada em todas as pessoas, todos os dias, em todas as áreas<sup>5</sup>. Há, deste modo, um envolvimento diário por parte de toda a equipa no intuito de alcançar o maior sucesso possível, desde a receção de encomendas ao atendimento ao público. Visa uma maior capacidade de organização, um comprometimento diário da equipa tendo em conta os objetivos propostos, uma implementação de tarefas concretas para cada colaborador. Assim, tendo em conta esta filosofia, por exemplo, mais fácil e rapidamente serão detetados erros de *stock*, sendo também minimizados, garantindo o melhor atendimento possível ao utente.

Durante a realização dos estágios de verão na FS foi-me possível constatar em que medida o modelo de gestão *Kaizen* potenciou o seu sucesso e crescimento. Verifiquei que o modelo trouxe inúmeras vantagens tais como: uma criteriosa e minuciosa organização de

espaços, uma planificação da gestão de *stock* bem determinada e implementada, objetivos de vendas muito bem definidos tendo em vista a maior rentabilidade da farmácia, colaboradores motivados e comprometidos com o sucesso, deteção de erros e rapidez na sua resolução, melhoria do atendimento ao público pela redução do tempo de espera, sendo um dos princípios a criação de valor para o cliente. Assim, foi-me possível contactar com uma filosofia de gestão diferente, que visa obter resultados cada vez melhores, sejam eles nos produtos e serviços, como nos seus processos internos refletindo-se no crescimento e produtividade da empresa.

#### **2.3.4. Participação em Ações de Formação**

Desde o início do estágio, foi-me sempre dada a oportunidade de participar em ações de formação. No mês de janeiro de 2020 assisti a uma formação presencial da marca de dermocosmética Martiderm<sup>®</sup>, dada por uma delegada comercial que visita a FS. De entre as quatro farmácias existentes na cidade de Oliveira do Hospital, a FS é a única que comercializa os produtos da tão famosa marca espanhola. Considero a formação disponibilizada pela marca extremamente útil e importante, uma vez que permite que toda a equipa, antecipadamente, esteja a par das novidades, que conheça melhor os produtos e, evidentemente, os seus constituintes de uma forma mais detalhada e objetiva. Para além disso, faz parte desta ação de formação, a resolução de casos práticos em contexto real, que muito contribui para solidificar os conhecimentos transmitidos e enriquecer um futuro aconselhamento prestado. Numa outra perspetiva, este acompanhamento dado à farmácia envolve um processo contínuo, o que contribui para uma equipa sempre motivada e atualizada.

Por outro lado, devido à Covid-19, muitos congressos e ações de formação de forma presencial foram cancelados e, nesse sentido, as formações *online* ganharam outra dimensão. Quando o meu estágio foi suspenso, inscrevi-me no Programa FIT<sup>®</sup> da Escola de Pós-Graduação em Saúde e Gestão da Associação Nacional de Farmácias (ANF), que engloba conteúdos com aplicabilidade direta no dia-a-dia da Farmácia Comunitária fazendo parte as áreas Técnico-Científica, Comportamental, Eficiência Operacional e Tecnológica, que certamente acrescentará valor à minha formação profissional. Por outro lado, sempre que oportuno participei em diversas formações *online* em contexto de *e-learning*, providenciadas por marcas de produtos farmacêuticos (Mental Action<sup>®</sup>, Neo-Sinefrina<sup>®</sup>), por marcas de alimentação infantil (Nestlé Nancare<sup>®</sup>), marcas de dermocosmética (Caudalie<sup>®</sup>, La Roche Posay<sup>®</sup>), pelo Espaço Animal, entre outros. Estas formações têm como principal objetivo capacitar as equipas para adquirir, atualizar ou aprofundar conhecimentos, contribuindo para

melhorar o seu desempenho profissional e a sua diferenciação no aconselhamento dos produtos.

Destaco a minha participação nestas ações de formação, como uma valiosa oportunidade, para me formar continuamente enquanto futura profissional de saúde. No que respeita à Farmácia Comunitária em que diariamente surgem no mercado produtos novos é fundamental existirem este tipo de iniciativas, mas, enquanto estagiária, é importante ter a perceção desta realidade, visto que é uma das áreas profissionais que mais exige empenho e dedicação diários.

## **2.4. Ameaças (*Threats*)**

### **2.4.1. Medicamentos Esgotados**

Têm sido recorrentes as notícias dando informação da falta de medicamentos nas farmácias<sup>7,8</sup>. Por variadas razões, os utentes ficam sem acesso a medicamentos que tomam de forma crónica, essenciais para a manutenção do seu estado de saúde. Algumas das vezes, os medicamentos esgotados podem não ter um impacto tão notório no dia-a-dia das pessoas, uma vez que existem alternativas terapêuticas, embora isto nem sempre aconteça. Um exemplo desta realidade é o Ursofalk<sup>®</sup> 250mg, um MSRM indicado para a dissolução de cálculos biliares de colesterol da vesícula biliar, para o tratamento da gastrite de refluxo biliar e também para o tratamento sintomático da cirrose biliar primária<sup>9</sup>, que se encontrou esgotado por largos períodos de tempo e, lamentavelmente, não existe alternativa terapêutica. Esta situação gerou grande preocupação por parte de toda a equipa da FS, que diariamente fazia o que estava ao seu alcance, desde telefonemas a *e-mails* para todos os fornecedores, com o objetivo de disponibilizar o medicamento o mais rápido possível aos seus utentes.

Neste contexto, deparei-me, inúmeras vezes, com utentes que ao aviar as suas receitas encontravam os seus medicamentos habituais esgotados. Desse modo, assisti a um profundo desconhecimento por parte da população perante esta problemática, visto que os utentes atribuem esta indisponibilidade à farmácia, julgando ser fruto de má gestão ou desorganização.

No sentido de maximizar o acesso dos medicamentos à população portuguesa, foi criada em 2015 a Via Verde do medicamento<sup>10</sup>, que consiste num protocolo de abastecimento de medicamentos entre a farmácia e o armazenista com o intuito de assegurar o *stock* do medicamento de forma rápida e eficaz. No entanto, apenas fazem parte deste mecanismo um número reduzido de medicamentos, mas têm vindo a ser integrados medicamentos cujas faltas são frequentes. Nessa medida, a equipa da FS tenta assegurar, quando lhe é permitido, o *stock* dos medicamentos através deste protocolo. Uma outra medida para evitar a rutura de *stock*

de medicamentos é a própria indústria farmacêutica enviar os medicamentos diretamente à farmácia quando estes se encontram esgotados. Para tal, foram criadas as designadas linhas SOS medicamento, através das quais é feito um pedido a solicitar os medicamentos esgotados.

#### **2.4.2. Solicitação Abusiva de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica**

A dispensa de MSRM representa o maior número de atendimentos e a maior percentagem de vendas da FS. Como é de conhecimento geral, os MSRM requerem a apresentação de uma prescrição médica para que possam ser dispensados na farmácia. Porém, constatei, por inúmeras vezes, situações em que utentes se dirigem à farmácia solicitando a dispensa do MSRM alegando que o mesmo está a terminar e necessitam de o tomar diariamente. Uma das causas pode ser a longa espera por consultas médicas e, por isso, não ser possível obter uma renovação da receita para a medicação habitual. Perante tal situação, o farmacêutico, vê-se numa posição ingrata visto que não ter acesso ao processo clínico do doente, o qual seria extraordinariamente útil para esclarecer muitas questões.

Da mesma forma, constatei, por inúmeras vezes, utentes a solicitarem antibióticos sem prescrição médica, alegando que já os tomaram anteriormente para diversas situações e que apenas com o antibiótico é que sentiram melhoria do seu estado de saúde. Muitas das pessoas ignoram as indicações terapêuticas dos antibióticos, julgando serem eficazes em gripes e constipações, o que revela um desconhecimento profundo e falta de informação sobre este tema. Portanto, o farmacêutico deve prestar especial atenção neste tipo de situações, apostar na educação do doente, mas, sobretudo, ter uma excelente capacidade de comunicação sempre que está a ser pressionado para a venda deste grupo de medicamentos.

#### **2.4.3. Covid-19**

Devido ao surto pandémico de Covid-19, com a consequente declaração do Estado de Emergência em Portugal, o meu estágio curricular foi marcado por uma interrupção.

Quando foram notificados os primeiros casos de Covid-19 no nosso país, ainda me encontrava a estagiar na FS. Porém, assim que foram relatados os primeiros casos noutros países da Europa, nomeadamente Itália e Espanha, pela proximidade de fronteira, antevia-se que em breve chegaria a Portugal. Nesse momento, deparei-me com utentes a solicitar exageradamente a compra de máscaras de proteção e álcool gel, deixando o *stock* destes produtos comprometido. Na semana anterior ao Estado de Emergência entrar em vigor, houve um grande afluxo de pessoas à farmácia, a solicitar, maioritariamente, MNSRM, para sintomatologia de gripe e constipações, com receio de uma eventual rutura de *stock*. Por outro lado, constatei utentes despreocupados e indiferentes à situação, não respeitando as

recomendações de isolamento social, nem seguindo as regras de higiene como a etiqueta respiratória.

O abastecimento de medicamentos à farmácia também foi um dos problemas graves que assolou a FS, visto que em muitas encomendas estavam associadas faltas de produtos bem como erros de faturação, para além da diminuição abrupta do número de entregas diárias por parte de alguns fornecedores. Como seria exetável, esta situação gerou uma enorme preocupação e inquietação em toda a equipa da FS, que culminou em alterações na gestão do *stock* da mesma.

Numa perspetiva pessoal, no âmbito da infeção pelo novo Coronavírus (2019-nCoV), encaro, o surto pandémico de Covid-19, como uma ameaça para o meu estágio curricular visto ter perturbado toda a sua dinâmica numa fase importante em que já me encontrava a aplicar conhecimentos adquiridos na prática profissional. Apesar de ter causado a sua interrupção, estou ciente, quanto à decisão tomada, pela existência de riscos suscetíveis de ameaçar a segurança ou saúde da população.

### **3. Casos Práticos**

#### **Caso Prático I**

O utente A.F., do sexo masculino com cerca de 60 anos, dirigiu-se à farmácia para solicitar um medicamento para a “manqueira das ovelhas”. Enquanto estagiária nunca tinha ouvido falar nesse termo, mas no decorrer da conversa e pela descrição feita pelo utente (infeção dos dedos, com formação de pus entre as unhas), apercebi-me que se pudesse tratar de uma doença comum destes animais. Associei essa designação à peira nos pequenos ruminantes<sup>11</sup>, que se traduz por ser uma doença que afeta os membros dos ovinos e caprinos. Ainda assim, solicitei ajuda por parte da minha orientadora para ter a certeza da decisão a tomar e, como tal, dispensei a Terramicina<sup>®</sup> em *spray* cujo princípio ativo é a oxitetraciclina, um antibiótico, para aplicar no local da infeção do animal. Para além disso, também lhe foi transmitido que seria importante uma limpeza regular das unhas do animal, com a eliminação completa das partes mortas de modo a acelerar o processo de recuperação do mesmo.

#### **Caso Prático II**

A utente M.T., do sexo feminino com cerca de 60 anos, dirigiu-se à farmácia para encontrar uma solução para a “boqueira das cabras” de que é proprietária, alegando que vem

sempre a esta farmácia porque sabe que tem o que procura. Importa referir que a boqueira é um nome vulgar dado para o ectima contagioso dos cabritos e dos borregos, sendo uma afeção comum dos pequenos ruminantes jovens. É, portanto, uma doença de pele, provocada por um vírus, que afeta sobretudo a pele e os lábios dos ovinos e caprinos. O tratamento passa pela desinfeção diária das feridas da boca com solução de glicerina iodada a 6%. No entanto, acrescentei que não deve descurar as regras de higiene pessoal, bem como o uso de luvas no manuseamento dos animais.

### **Caso Prático III**

A utente M.J. do sexo feminino com cerca de 40 anos foi à farmácia para solicitar ajuda para a remoção dos piolhos da filha, alegando que a criança está com imensa comichão. Perguntei, de imediato, qual a idade (6 anos) e se já tinha utilizado algum produto para a pediculose recentemente, à qual me respondeu que não. Aconselhei Elimax<sup>®</sup> champô<sup>12</sup>, o qual deve ser aplicado no cabelo seco deixando atuar cerca de 15 min, prestando especial atenção para a zona da nuca e atrás das orelhas. Após este tempo, sugeri passar o pente para a remoção das lêndeas, lavar o cabelo com o seu champô habitual e voltar a utilizar o pente. Acrescentei ainda, que caso preferisse, poderia também utilizar um condicionador habitual para eliminar mais eficazmente as lêndeas. Alertei que seria benéfico passar o pente várias vezes durante a semana e que também podia usar um champô pós-tratamento, como prevenção, o qual substitui o champô de uso diário durante 2-3 dias. Ressalvei o facto de o tratamento dever ser repetido após uma semana.

Para além disso, sugeri como medidas não farmacológicas evitar o contacto direto entre cabeças na escola, verificar a cabeça da sua filha regularmente, lavar a roupa de cama e vestuário que possa ter em estado em contacto a 60°C e os objetos que não fossem passíveis de lavar deveriam ser fechados num saco plástico durante duas semanas.

### **Caso Prático IV**

A utente B.D., do sexo feminino com cerca de 50 anos, dirigiu-se à farmácia muito aflita porque a tosse não a está a deixar dormir. Refere que é uma tosse seca e que já tomou um xarope que tinha em casa, mas mesmo assim não melhorou. Primeiramente, perguntei há quanto tempo tinha a tosse (3 dias), outros possíveis sintomas (como febre, dores de garganta, dor de cabeça, espirros rinite e/ou congestão nasal) e se tinha algum problema de saúde ou tomava alguma medicação. Referiu que não tinha mais nenhum sintoma para além da tosse

e congestão nasal e que tomava um comprimido de manhã para a hipertensão arterial. No decorrer da conversa, tentei perceber melhor o tipo de tosse e apercebi-me que em vez de tosse seca estava perante uma tosse com expetoração, pelo facto de referir que sentia algo na garganta, mas que não conseguia libertar. Perguntei o nome do xarope que tinha tomado ao que me respondeu Bisoltussin<sup>®</sup>. Nesse sentido, aconselhei-a, antes, a tomar um xarope fluidificante de secreções, Bisolvon<sup>®</sup> 5 ml, 3 vezes/dia<sup>13</sup> e também Marimer<sup>®</sup>, água do mar hipertónica, indicada no alívio da congestão nasal, 1 a 2 pulverizações em cada narina até 3 vezes/dia<sup>14</sup>. Acrescentei ainda, que se a tosse não passasse após uma semana ou tivesse agravamento de sintomas deveria consultar um médico. Como medidas não farmacológicas aconselhei a ingestão de muita água ou chá com mel e limão, evitar locais com ar condicionado, dormir com uma ligeira inclinação na cabeceira e, muito importante, cumprir as regras de etiqueta respiratória.

### **Caso Prático V**

O utente J.P., do sexo masculino com cerca de 35 anos, dirigiu-se à farmácia no início da manhã referindo ter tido dejeções líquidas frequentes durante a noite. Encontrava-se preocupado visto que tinha de fazer uma viagem longa de carro para ir trabalhar. Questionei o utente acerca da frequência das dejeções, se tinha tomado algum medicamento, outros sintomas como febre, vómitos, náuseas, dor abdominal intensa ou se tinha feito alguma viagem recentemente. Não sofria de nenhum problema de saúde grave, apenas de enxaqueca. Perante esta situação, como medidas farmacológicas, aconselhei a toma de 2 comprimidos orodispersíveis de Imodium Rapid<sup>®</sup> (loperamida) de uma vez, explicando que apenas tomava 1 comprimido após cada dejeção diarreica, até ao máximo de 8 comprimidos por dia<sup>15</sup>. Importa referir que dispensei este medicamento porque o utente precisava de fazer uma longa viagem de carro e, dessa forma, porque se trata de um fármaco obstipante, ajudaria na diminuição da intensidade da diarreia. Por outro lado, aconselhei a toma de uma cápsula 3 vezes/dia do medicamento probiótico UL-250<sup>®</sup>, a fim de equilibrar a flora intestinal, ajudando também a tratar a diarreia<sup>16</sup>. Como medidas não farmacológicas, para evitar o risco de desidratação, recomendei beber muita água ou chá fraco, evitar café ou álcool, privilegiar os alimentos cozidos e grelhados, comer fruta como banana, pera ou maçã cozida e não ingerir alimentos com gordura. Por último, referi que caso não tenha alívio dos sintomas nos próximos 2 dias, devia ser visto por um médico.

## **Caso Prático VI**

Uma senhora com cerca de 35 anos foi à farmácia, muito apreensiva, solicitando a pílula do dia seguinte. Antes de mais, perguntei há quanto tempo tinha sido a relação sexual, ao que me respondeu “ontem à noite”. Seguidamente, tentei perceber se tinha usado algum tipo de proteção ou se tomava a pílula contracetiva e respondeu-me que não tomava nada, “apenas que tinha corrido mal”. Posteriormente, perguntei se sabia em fase do seu ciclo menstrual se encontrava ao que não me soube responder. Tomei a decisão de dispensar a pílula Postinor<sup>®17</sup>, levonorgestrel, assegurando-me para tal que a utente não tinha nenhum problema de saúde. Informei a utente que esta pílula não lhe daria proteção para futuras relações sexuais, devendo para isso tomar precauções adicionais. Alertei que caso ocorressem vômitos nas primeiras 3 horas, a toma pílula deveria ser repetida. Por fim, referi que a menstruação poderia ocorrer alguns dias antes ou depois do esperado.

## **Caso Prático VII**

Uma jovem com cerca de 28 anos, foi à farmácia muito aflita, referindo que as alergias estão a afetar a sua qualidade de vida e pergunta se “existe alguma coisa que alivie rapidamente porque não consegue trabalhar assim”. Em primeiro lugar, quis perceber quais os sintomas, para conseguir fazer uma melhor intervenção e, apercebi-me que a rinorreia, era, sem dúvida, o que a incomodava. Não tinha nenhum problema de saúde nem tomava nenhuma medicação. Nesse sentido, aconselhei-a a tomar Cetirizina 10 mg, um comprimido por dia, à noite, durante 3 ou 4 dias e o Vibrocil Anti-Alergias<sup>®18</sup>, 2 pulverizações em cada narina 2 vezes por dia. Assim que os sintomas melhorassem, aconselhei a dose de manutenção diária, uma aplicação em cada narina, uma vez por dia. Contudo, caso não sentisse melhoras nos dias seguintes, ressalvei a importância para uma consulta médica. Alertei para o facto do Vibrocil Anti-Alergias<sup>®</sup> não possuir um efeito imediato e, que por essa razão, apenas iria percecionar um alívio dos sintomas alguns dias depois.



#### 4. Conclusão e Perspetivas Futuras

Após este período tão conturbado, mas feliz, corroboro que a Farmácia Comunitária, para além de ser um local reconhecido pela existência de recursos humanos qualificados, posicionou-se na sociedade, como um local de referência para o aconselhamento e resolução de afeções de saúde menores. É, nessa medida, um espaço de saúde que exige diariamente empenho e dedicação por parte dos seus profissionais de saúde, com vista à promoção e manutenção do bem-estar e saúde dos seus utentes.

Na minha opinião, e no que ao uso racional do medicamento diz respeito, dever-se-ia apostar mais na promoção da educação do doente para a saúde, contando para tal com diversas medidas, como as campanhas de sensibilização pública (como a dos antibióticos), medidas de adesão à terapêutica como a disponibilização multicanal (etiquetas de posologia, talão, *e-mail*, SMS, app), entre outros. Porém, a articulação entre profissionais de saúde de instituições como lares, centros de dia, centros de saúde é fundamental para uma correta intervenção junto da população, no que concerne à veiculação de informação relativa às necessidades e comportamentos a adotar para a prevenção de doenças. Uma outra medida passa por continuar a incentivar a entrega das sobras dos medicamentos nos pontos de recolha VALORMED® nas farmácias, evitando, por exemplo, a utilização de antibióticos não prescritos.

Com o término do meu estágio, certifico que a relação farmacêutico-doente é, sobretudo, pautada pela confiança. Muito mais que um profissional de saúde, com responsabilidade e competência para promover o uso racional do medicamento, é alguém que assume um papel essencial na comunidade pelas palavras de incentivo, de tranquilidade e, muitas vezes, de conforto. Valorizo esta unidade curricular pela oportunidade de contacto com uma prática profissional de excelência, na certeza de que este período de valiosa e contínua aprendizagem, me permitiu adquirir competências para me tornar uma Farmacêutica mais segura, sensível e otimista.

## 5. Referências

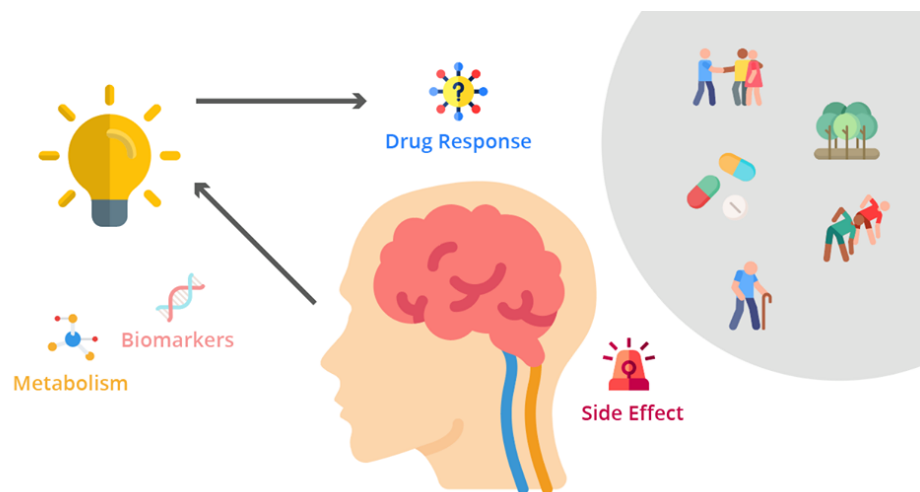
1. PITA, J. R., PEREIRA, A. L. - **A arte farmacêutica no século XVIII, a farmácia conventual e o inventário da Botica do Convento de Nossa Senhora do Carmo.** *Ágora. Estudos Classicos em Debate*, 14:1 (2012) 227–268.
2. WILLIAMS, C. M. - **Using medications appropriately in older adults.** *American Family Physician*, 66:10 (2002) 1917–1924.
3. INFARMED, I. P. - **Resumo das Características do Medicamento Clavamox ES, pó para suspensão oral** [Consultado a 21 de abril de 2020]. Disponível na internet: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=37848&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=37848&tipo_doc=rcm)
4. CALLEGARI 1930 - **CLINI5** [Consultado a 21 de abril de 2020]. Disponível na internet: <https://www.callegari1930.com/sangue/clin5>
5. JANJIĆ, V., BOGIĆEVIĆ, J., KRSTIĆ, B. - **Kaizen as a global business philosophy for continuous improvement of business performance.** *Ekonomika*, 65:2 (2019) 13–25.
6. KAIZEN INSTITUTE PORTUGAL - **KAIZEN** [Consultado a 4 de fevereiro de 2020]. Disponível na internet: <https://pt.kaizen.com/home.html>
7. O JORNAL ECONÓMICO - **Falta de medicamentos nas farmácias afeta milhares de doentes em Portugal.** [Consultado a 22 de abril de 2020]. Disponível na internet: <https://jornaleconomico.sapo.pt/noticias/falta-de-medicamentos-nas-farmacias-afetam-milhares-de-doentes-em-portugal-480535>
8. VIDA EXTRA - EXPRESSO - **Farmácias portuguesas obrigadas a notificar a falta de medicamentos.** [Consultado a 22 de abril de 2020]. Disponível na internet: <https://vidaextra.expresso.pt/saude/2020-01-14-Farmacias/-portuguesas-obrigadas-a-notificar-a-falta-de-medicamentos>
9. INFARMED, I. P. - **Resumo das Características do Medicamento Ursofalk 250 mg, cápsulas** [Consultado a 22 de abril de 2020]. Disponível na internet: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=8950&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=8950&tipo_doc=rcm)
10. COSTA, S. - **A via é verde, mas estreita.** *Revista Saúde*. (2018). Disponível na internet: <https://www.revistasauda.pt/noticias/Pages/A-via-e-verde-mas-estreita.aspx>
11. QUINTAS, H. - **Guia sanitário para criadores de pequenos ruminantes.** (2012). Disponível na internet: <http://hdl.handle.net/10198/7264>
12. **Elimax - O primeiro produto contra os piolhos que mata e protege ao mesmo tempo** - [Consultado a 23 de abril de 2020]. Disponível na internet: <https://www.elimax.com/pt-pt>
13. INFARMED, I. P. - **Resumo das Características do Medicamento - Bisolvon Linctus Adulto, 1,6 mg/ml Xarope** [Consultado a 23 de abril de 2020]. Disponível na internet: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=36696&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=36696&tipo_doc=rcm)

14. **Nariz Entupido – Constipação – Marimer** - [Consultado a 23 de abril de 2020]. Disponível na internet: <https://marimer.pt/higiene-nasal/nariz-entupido-constipacao/>
15. INFARMED, I. P. - **Resumo das Características do Medicamento - Imodium Rapid, 2 mg comprimido orodispersível**. [Consultado a 23 de abril de 2020]. Disponível na internet: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=4444&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=4444&tipo_doc=rcm)
16. INFARMED, I. P. - **Resumo das Características do Medicamento - UL-250, 250 mg, cápsulas** [Consultado a 23 de abril de 2020]. Disponível na internet: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=8813&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=8813&tipo_doc=rcm)
17. INFARMED, I. P. - **Resumo das Características do Medicamento - Postinor 1500 microgramas comprimido**. [Consultado a 7 de junho de 2020]. Disponível na internet: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=39678&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=39678&tipo_doc=rcm)
18. INFARMED, I. P. - **Resumo das Características do Medicamento - Flonaze 50 microgramas/dose suspensão para pulverização nasal**. [Consultado a 7 de junho de 2020]. Disponível na internet: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=585021&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=585021&tipo_doc=rcm)

# PARTE II

## MONOGRAFIA

### **“PHARMACOMETABOLOMICS AND THERAPEUTIC DRUG MONITORING IN NEUROPSYCHIATRIC DRUGS”**



Orientadora: Professora Doutora Ana Cristina Bairrada Fortuna

## **Abstract**

Genetic profile is only one of the reasons that may explain the inter- and intra-individual variations observed in drug-response phenotypes. However genetic variations may develop distinct phenotypes. Therefore, its combination with metabolomics, defined as the real-time metabolic phenotype expressed by an organism, is emerging as a new approach to attain an optimized therapy, tailoring drug efficacy and safety.

Pharmacometabolomics studies the interplay between drug pharmacology and patient's metabolic phenotype. In fact, it aims at controlling clinical outcomes and monitor disease progression. The integration of metabolic data with pharmacogenomics during Therapeutic Drug Monitoring applied in Neuropsychiatric drugs have been ascribed as a key tool to improve the drugs response and identify new biomarkers to define the best treatment and posology. The importance of developing an individual metabotype before establishing the treatment will be herein discussed, focusing particularly the neuropsychiatric drugs which therapeutic drug monitoring has been based on pharmacometabolomics.

**Keywords:** Biomarkers; Neuropsychiatric Drugs; Pharmacogenomics; Pharmacometabolomics; Therapeutic Drug Monitoring.

## **Resumo**

O perfil genético de um indivíduo é apenas uma das razões que pode explicar a variabilidade inter- e intra-individual observada nos fenótipos de resposta a medicamentos. A combinação da farmacogenética e farmacometabolómica, definida como o fenótipo metabólico em tempo real expresso por um organismo, é atualmente considerada uma nova abordagem para conseguir maximizar a eficácia e a segurança dos medicamentos.

A farmacometabolómica estuda a interação entre a farmacologia do fármaco e o fenótipo metabólico do doente, monitorizando os resultados clínicos e a progressão da doença. A integração de dados metabólicos com a farmacogenómica durante a Monitorização Terapêutica de Fármacos aplicada a fármacos para doenças neuropsiquiátricas, tem-se revelado como uma ferramenta fundamental para melhorar a resposta ao fármaco e identificar novos biomarcadores para definir o melhor tratamento e posologia. A importância de desenvolver o perfil metabólico de cada indivíduo antes de estabelecer o tratamento será discutida neste trabalho, incidindo particularmente em psicofármacos, cuja monitorização terapêutica inclui a farmacometabolómica.

**Palavras-chave:** Biomarcadores; Farmacogenómica; Farmacometaolómica; Monitorização Terapêutica de Fármacos; Psicofármacos.

## List of Abbreviations

<b>5-MTPM</b>	5-Methoxytryptamine
<b>5-MTPOL</b>	5-Methoxytryptophol
<b>AUC</b>	Area Under the Concentration Curve
<b>BD</b>	Bipolar Depression
<b>DHEA</b>	Dehydroepiandrosterone
<b>DNA</b>	Deoxyribonucleic Acid
<b>ERICH3</b>	<i>Glutamate-rich 3</i>
<b>GLDC</b>	Glycine Dehydrogenase
<b>GWAS</b>	Genome Wide Association Studies
<b>HAMD<sub>17</sub></b>	17-item Hamilton Rating Scale for Depression
<b>KYN</b>	Kynurenine
<b>MDD</b>	Major Depressive Disorder
<b>MEL</b>	Melatonin
<b>PK/PD</b>	Pharmacokinetics/Pharmacodynamics
<b>QIDS-C<sub>16</sub></b>	16-item Clinician-Rated - Quick Inventory of Depressive Symptomatology
<b>SNP</b>	Single Nucleotide Polymorphism
<b>SSRI</b>	Selective Serotonin Reuptake Inhibitors
<b>TDM</b>	Therapeutic Drug Monitoring
<b>TSPAN5</b>	<i>Tetraspanin 5</i>

## I. Introduction

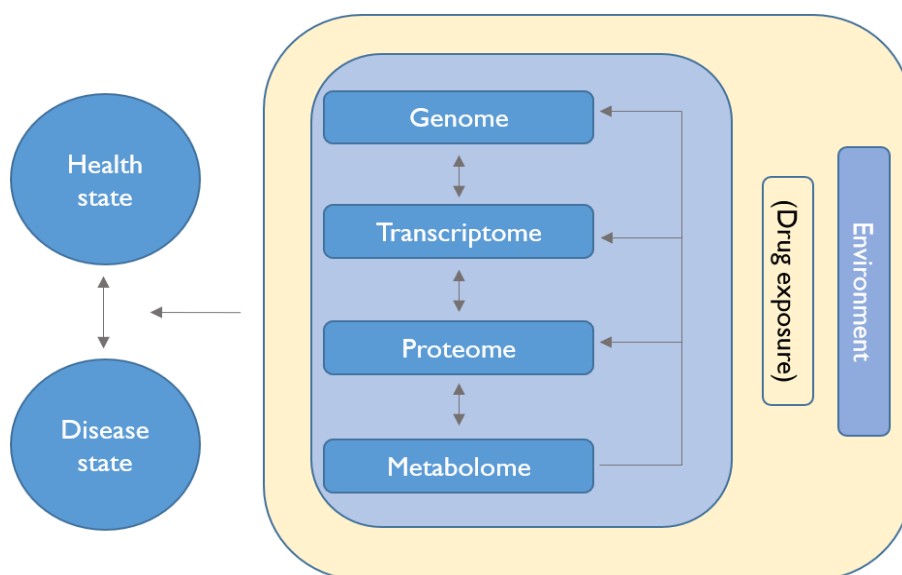
Genetics plays an essential role in the natural inter-individual variability, allowing the prediction of the individual risk to develop a disease. Indeed, family medical history, including DNA variations, alongside with environmental factors (which encompasses lifestyle) contribute to the development of a disease and a drug response. On the other hand, these individual differences can also influence drugs biodisposition and consequently their pharmacological response. Hence, inter- and intra-individual variability observed in drug response can result from a wide range of characteristics, including age, sex, ethnicity, disease state, drug-drug interactions<sup>1,2</sup> as well as genetic factors<sup>3</sup>.

Clinical observations underlying inherited differences of drug effects were, for the first time, documented in the 1950s<sup>4</sup>. Consequently, the emergence of two scientific sciences – pharmacogenetics and pharmacogenomics – became clear: pharmacogenetics studies the effect of genetic variations in drug response, including adverse reactions<sup>3</sup>, while pharmacogenomics uses genome-wide approaches to elucidate the inherited differences<sup>4</sup>. As stated by William Osler, “Variability is the law of life, and as no two faces are the same, so no two bodies are alike, and no two individuals react alike and behave alike under the abnormal conditions which we know as diseases.” This means, that the same dose of the same drug may develop distinct pharmacological responses. The explanation can be seen as simple as there are individual genetic characteristics that can influence drug effectiveness. However, several factors besides genetics determine pharmacological response since mutations or gene variants may not change the final products. The development of powerful and effective pharmacologic agents has highlighted the necessity for individualizing drug therapy. The strategy involves selecting patients which are most likely to respond to the treatment, in order to minimize the occurrence of adverse drug reactions and maximizing the desired therapeutic effect<sup>5</sup>.

Clinical areas like pharmacology and genomics are very important to the researchers set out which are the inherited genetic differences responsible to the variation in drug response. However, more recently, metabolomics started to gain relevance as it studies in deeply the metabolism of xenobiotics (including drugs) and endogenous molecules to identify biosignatures for disease subclassification and/or drug response phenotypes. It consists of a global not-targeted approach to the study of biochemical processes and its application allows to identify disease-specific metabolomic profiles and biomarkers<sup>6</sup>. Pharmacometabolomics is, thus, presented as an emerging scientific area which uses “metabolic profiles” to characterize biological response to drug treatments<sup>7</sup>. It involves the determination of the metabolic state of an individual and is influenced by factors like environment, genetic and gut microbiome<sup>2</sup>.



Figure I illustrates how the environment and DNA have influence in the qualitative and quantitative profile of the end products and health disease states<sup>8</sup>. Importantly, not all DNA mutations or sequencing alterations compromise biological functions (e.g. protein functions) and it is, hence, important to assess the function of the final product. In this context, metabolome measures the activity of several final products and represents a state function for an individual at a specific time after exposure to a specific environmental stimulus<sup>2</sup>.

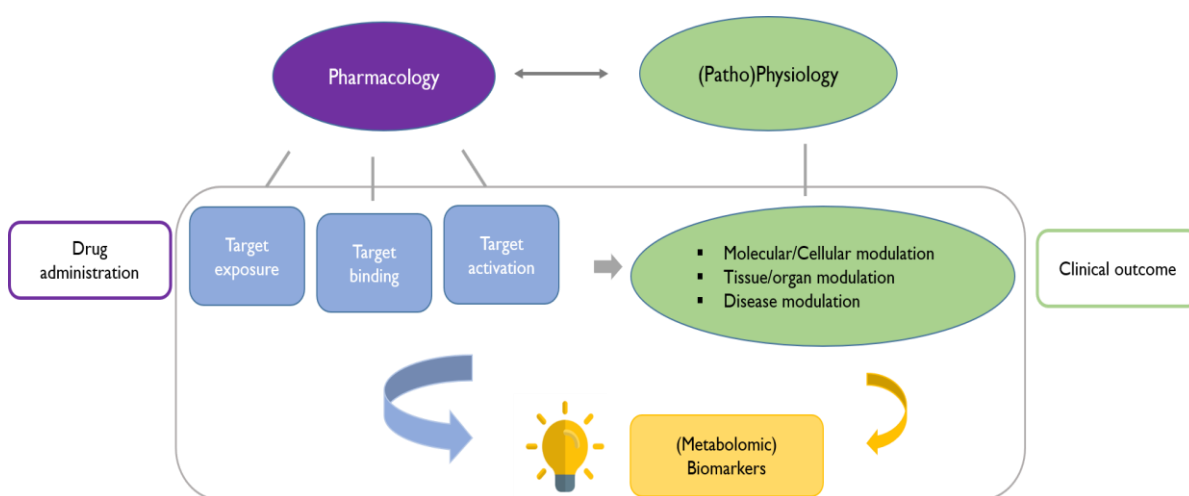


**Figure I:** Flow of information from the genetic code (DNA) to proteins, and finally to metabolites. Adapted from<sup>8</sup>.

Herein, the role of pharmacometabolomics will be discussed regarding neuropsychiatric diseases evolution and treatment. Up to day, pharmacometabolomics has already demonstrated to be useful to predict the clinical response of Selective Serotonin Reuptake Inhibitor (SSRI) drugs and, consequently, to classify psychiatric diseases in subclasses in accordance to molecular mechanisms and drug response<sup>9</sup>. In theory, that might allow a rational selection of optimal therapy for each patient – that is, precision pharmacotherapy<sup>7</sup>.

In a personalized therapeutic, it is essential to identify biomarkers that predict drug response variability and allows disease course monitoring. Biomarkers applied in the clinical practice will help to achieve a personalized therapeutic for each person, maximizing the therapeutic effect and minimizing adverse effects as much as possible. Nowadays, it is known that biomarkers are important for studying the interplay between drug pharmacology and patient's pathophysiology. Nonetheless, it is noteworthy that, if a drug does not reach the target, it will not have effect or lower one and therefore blood concentration of a drug can be considered as a biomarker.

Aspects like target exposure, target binding and target activation are directly related to drug-specific properties but also with patient's characteristics (Figure 2). So, if the mechanisms underlying these processes are accurately known, more easily the therapy will be efficient and safe. In fact, a drug not only must reach the target but also bind it and consequently activate it in order to cause a signal which will involve several effects<sup>10</sup>. Certainly, the physicochemical properties of the drug may influence and the patient characteristics as well, so these characteristics will underlie inter- and intra-individual variability in signal potentiation and thereby in the patient outcomes.



**Figure 2:** The interplay between pharmacology and patients (patho)physiology using a metabolomic strategy. Adapted from<sup>10</sup>.

The identification of endogenous metabolites markers through metabolomics allows to classify the patients into subpopulations that share similar metabolic characteristics, giving a rise to individualized drug therapeutic. Using metabolite biomarkers and pre-dose metabolite biomarker profiles through the pharmacometabolomics strategy will allow to prospectively guide drug selection and dose definition as well as monitor the effects of pharmacotherapy.

The evaluation of the phenotype of several drug-metabolizing enzymes has been suggested to be achieved with the administration of a probe drug or drug cocktail. However, safety can be compromised particularly for vulnerable people. Therefore, endogenous biomarkers are preferable to be used to predict the enzyme activity, reducing time and costs associated to exogenous compounds administration<sup>10</sup>. As a result, the endogenous biomarkers can lead the clinicians to get a decision according to the correct available treatment options.

## 2. Metabolomics and Pharmacometabolomics

Pharmacogenetics dates back to 1950s and later while pharmacogenomics was introduced in the 1990s<sup>3</sup>, as a result of the development of genome sciences, trying to find out either the effectiveness and safety of a drug and its ideal dosage<sup>2,11</sup>.

Pharmacogenomics considers genetic polymorphisms to predict individual variation in drug response. Accordingly, patients are frequently classified as poor or extensive drug metabolizers, or drug responders or non-responders. However, if the aim is studying a patient's genotype, it must be clear that genomics may not provide accurate information about patient's phenotype<sup>12</sup> once gene variations may not lead to the same final product as these also depends on environmental and disease factors as well as of life styles also.

Complementarily, metabolomics can explain the inter-individual variability observed in drug pharmacokinetics and consequently pharmacodynamics because it provides information about the metabolic profile of an individual which results from the metabolomic state of an individual. Hence, pharmacometabolomics comes up as a metabolomic discipline that studies both drug pharmacology and the disease pathophysiology<sup>10</sup>. By measuring endogenous metabolites, pharmacometabolomics will be useful to predict pharmacokinetics and pharmacodynamics or phenotypes<sup>9</sup>.

It is known that a variety of metabolomics platforms have been developed during the past decade but it should be clear that one platform alone cannot capture the total complexity of the metabolome<sup>2</sup>. For that matter, complementary platforms are required to better reach a larger number of metabolites and consequently define metabolomic signatures for diseases such as the neuropsychiatric ones.

When the analytical methods are applied to identify metabolic biomarkers, the research can be conducted either in a targeted or untargeted strategy<sup>13</sup>. A targeted approach is used when a target is partially known and so it is possible to quantify pre-selected endogenous metabolites. On the other hand, in an untargeted approach identifies a wide range of metabolites and, thus, it is useful for the evaluation of the metabolic fingerprint. Biomarker discovery is more effective using a targeted approach being based on *a priori* information and provides higher sensitivity and selectivity in the results due to the previous aspects selected like extraction and the analytical method<sup>13</sup>. Conversely, in the untargeted approach is harder to get accurate quantitative information, as a result of the physicochemical properties of the metabolites which are determinative for the success of its extraction or detection<sup>10</sup>. In addition, this kind of approach provides much more information because endogenous metabolites are quantified without any pre-selection.

Metabolomic studies are performed using various techniques such as Mass Spectrometry (MS) which remains one of the most popular analytical methods, being more sensitive and faster when compared with nuclear magnetic resonance (NMR). Some aspects must be considered in pharmacometabolomics as regards to the identification of endogenous metabolites. Indeed, their identification is important to describe individual metabolic pathways and predict individual drug pharmacokinetics characteristics as well as individual drug pharmacodynamics characteristics. At the end, biomarkers are intended to be identified for monitoring disease progression and pharmacotherapy<sup>10</sup>.

The development of pharmacometabolomics complement and guide subsequent genomic studies but requires the use of several high-throughput metabolomic platforms to detect and quantify hundreds or thousands of small molecule metabolites<sup>5</sup>. Pharmacometabolomics contributes to individualize drug therapy and might complement pharmacogenomics due to the intrinsic differences (environmental and microbiome influences) on response drug therapy<sup>2</sup>. Moreover, pharmacometabolomics will provide many benefits that are related to pharmacokinetics/pharmacodynamics (PK/PD) processes, ensuring a best drug selection as well as its dose.

Pharmacometabolomics allows the identification of patient's "*metabotype*", a specific characteristic of an individual, a metabolic state, that results from environmental and genomic interactions and informs about how an individual will respond to treatment<sup>14</sup>.

The development of pharmacometabolomics is also very important to detect several small molecules known by metabolites and complement and guide subsequent genomic studies in spite of being an stimulating challenge to merge concepts like pharmacogenomics and pharmacometabolomics<sup>2</sup>. A great advantage of metabolites use is that they are sensitive to biological changes which resulting from disease, genetic alterations, or environmental changes. As a result, a combination of the levels of metabolites (a metabolic signature) can be used as a more reliable biomarker of the cellular responses to biological changes<sup>15</sup>.

The endogenous metabolite profile is like a "*snapshot*" of the phenotypic status of an individual who results from demographic factors, environmental interactions, microbiota or disease status<sup>10,16</sup>. There are two main subgroups of metabolites that can be used for pharmacometabolomics-informed pharmacogenomic studies: exogenous metabolites (those produced by biotransformation of the pharmacological agent, i.e., the drug) and endogenous metabolites<sup>13</sup>. Hence, it is possible to correlate these metabolites with phenotypes, establishing useful biomarkers which could be indicative of physiological states. In addition, using them as biomarkers and defining their direct physiological roles, as well as how changes in their levels are implicated, it is likely to be an alternative to the current clinical practices to achieve

personalized treatment<sup>10,13</sup>.

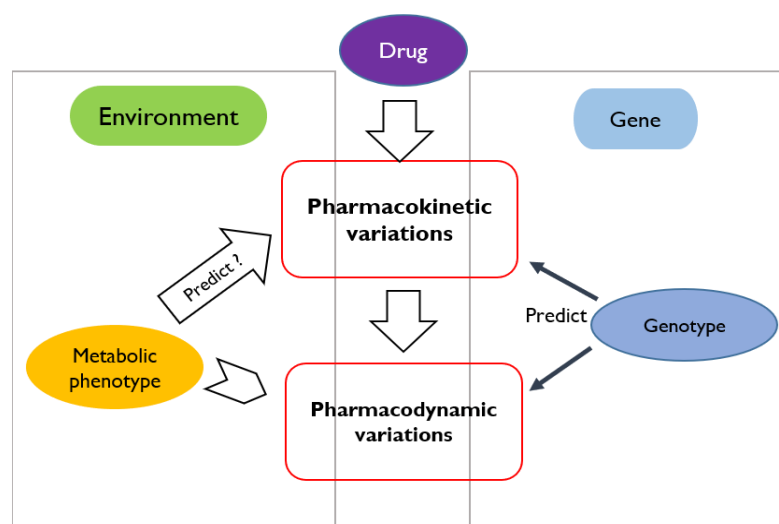
## **2.1. Pharmacometabolomics informs pharmacokinetics**

Pharmacokinetics involves the study of drug absorption, distribution, metabolism and its excretion. Thus, it describes the profile that the drug will have in the organism such as the drug concentration in plasma or in other tissues. Total drug exposure in a certain tissue is represented by the Area Under the Concentration Curve (AUC)<sup>10</sup>. Depending on the individual, biological processes will be different, so it is logical that drug pharmacokinetic profiles are not similar as well.

Pharmacometabolomics studies related to drug pharmacokinetics aim to identify endogenous metabolite markers that allow the stratification of patients according to their exposure to the drug. For instance, expression and activity of drug metabolizing enzymes, tissue composition including the expression of drug binding plasma proteins and tissues proteins, drug transporters and gut microbiome are significantly responsible to influence the pharmacokinetic of drugs<sup>10</sup>.

As far as possible, it is important to predict individual variations in pharmacokinetics of drugs with the purpose of avoiding adverse toxic effects or therapeutic failure. Besides, characteristics like age, body weight, disease state, drug formulation, and concomitant drugs administration can also be used as predictors for differences in pharmacokinetics.

Endogenous metabolite profiles have been used as a phenotype tool in order to achieve accurate information to, prospectively, inform about the differences that can be expected in drug pharmacokinetics and pharmacodynamics. Figure 3 describes how pharmacometabolomic study can be performed, considering the individual variations in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drug responses which are influenced by both genes and environment<sup>17</sup>. In this way, metabolic phenotype involves both environmental and genetic contributions to better assess an individual's biological condition.



**Figure 3:** Pharmacometabolomic study approach, considering the individual variations in the pharmacokinetics and pharmacodynamics and the impact of genes and environment influences. Adapted from<sup>17</sup>.

Table I summarizes some studies which were developed in order to identify patient's metabolic phenotype.

**Table I:** Metabolomic studies with different drugs in order to achieve the best therapeutic possible.

<b>Drugs</b>	<b>Aim/tool</b>	<b>Effect/conclusion</b>	<b>Ref.</b>
Atorvastatin	Pre-dose plasma metabolomic profiles.	Better prediction for explaining individual differences.	<sup>18</sup>
Midazolam	Endogenous steroid metabolomic profile to predict midazolam clearance.	More predictive biomarker profile.	<sup>15</sup>
Methotrexate	Pre-dose urinary metabolomic profile of endogenous metabolites.	Information about kidney transporters function.	<sup>19</sup>
Simvastatin	Competition for membrane transporters between simvastatin and bile acids.	Bile acids concentrations correlated with plasma simvastatin acid concentrations.	<sup>20</sup>
Tacrolimus	Pre-dose urine concentrations of four endogenous metabolites: cortisol, acetyl-arginine, phosphoethanolamine, and I-methylguanosine.	Prospective individual dose selection (Identify a metabolic phenotype predictive of the individualized PK of tacrolimus).	<sup>17</sup>

Particularly focusing on tacrolimus (Table I), which is an immunosuppressant drug that is used to prevent organ rejection after its transplantation, it has a narrow therapeutic window and a significant inter-individual variability. Altered bowel function, recovery or failure of renal function, development of diabetes and the nature of coadministered drugs have been identified as important factor that contribute to the inter-individual variability observed on therapy efficacy and safety<sup>17</sup>. The potential of a metabolic phenotype to predict individual variation in the pharmacokinetics of tacrolimus was evaluated and endogenous urine metabolites were correlated with drug exposure (given by AUC). After that, metabolic biomarkers were linked to mechanistic knowledge of the underlying PK processes. Consequently, a metabolomic

phenotype was established based on pre-dose urine concentrations of four drug endogenous metabolites predicting the exposure to tacrolimus for each enrolled patient, and consequently estimated the individual dose to be administered<sup>17</sup>.

In addition, atorvastatin, a highly effective cholesterol-lowering agent, exhibits a broad variation among individuals<sup>18</sup>, leading to therapeutic failure in some cases or adverse effects in others<sup>10</sup>. A study with this drug<sup>18</sup> tested the hypothesis that the pre-dose metabolic profile of human plasma would contain enough information to allow the prediction of atorvastatin pharmacokinetics without any prior knowledge of the genomic profile. The results revealed a combination of endogenous metabolite biomarkers (including metabolites such as tryptophan, alanine, arachidonic acid, 2-hydroxybutyric acid, cholesterol and isoleucine) indicated as candidate markers for predicting, showing better predictive capability for explaining individual differences<sup>18</sup>. Simvastatin belongs to the same pharmacotherapeutic class but its pharmacological responses demonstrated to be dependent of pre-dose levels of secondary bile acids produced in the gut<sup>20</sup>. Results of this study<sup>20</sup> identified primary and secondary bile acids for which pre-treatment concentrations were correlated with plasma simvastatin acid concentrations<sup>20</sup>. On the other hand, it is known that transporters used by simvastatin are also responsible for the transport of bile acids in the gastrointestinal tract and liver as well as simvastatin and bile acids regulate the expression of those transporters. One of the reasons for off-target effects of simvastatin is that there is a competition for membrane transporters between simvastatin and selected bile acids. It was observed that increased plasma concentration of simvastatin positively correlates with higher levels of several secondary bile acids<sup>20</sup> what may influence the patient's response to this drug.

Midazolam belongs to called benzodiazepines drugs class and it is known to be mainly metabolized by the cytochrome P450 (CYP) complex, particularly CYP3A5<sup>15</sup>. The clearance of midazolam was studied either after induction of CYP3A family by the antifungal drug ketoconazole and after its inhibition by rifampicin (antibiotic drug). Besides, this was the first study that used metabolomic profiling to assess individual CYP3A activity during consecutive CYP3A-inhibited and CYP3A-induced phases. The results of this study identified an endogenous steroid metabolomic profile in urine which could accurately predict midazolam clearance<sup>15</sup>. Interestingly, midazolam clearance was highly correlated with the known CYP3A markers and therefore it could be accurately predicted considering patient's endogenous steroid metabolomic profile in urine<sup>10</sup> (it was showed that ratios from specific steroid compounds were highly correlated with hepatic CYP3A activity and midazolam CL could be predicted using a combination of urinary dehydroepiandrosterone (DHEA) levels, 7 $\beta$ -hydroxy-DHEA:DHEA ratios, 6 $\beta$ -hydroxycortisone:cortisone ratios, and CYP3A5 genotype)<sup>15</sup>. It was

also shown that urine sample collection time did not influence the predictive value of the biomarker, making it possible to establish a current midazolam clearance in patients who are now receiving the drug<sup>10</sup>.

Methotrexate is a chemotherapy and immunosuppressant drug with an undeniable PK/PD relationship since methotrexate severe toxicity increases as drug levels enhance<sup>19</sup>. A pre-dose urinary metabolomic profile encompassing 28 endogenous metabolites accurately predicted the clearance of high-dose methotrexate in patients diagnosed with lymphoid malignancies<sup>19</sup>. It is noteworthy that there is a large inter-individual and inter-occasion variability in the clearance of this drug that leads to regular adverse effects. Many of those metabolites are substrates for organic anion transporters in the kidney, which have a major role in methotrexate renal excretion<sup>19</sup>. This study corroborates that metabolomic profiles also provide information regarding transporters function.

### **3. Pharmacometabolomics in the Neuropsychiatric Diseases**

Over the past five decades, a significant number of antidepressants have been developed, representing a wide range of molecular and therapeutic classes<sup>6</sup>. The SSRIs or the noradrenaline reuptake inhibitors are examples of these pharmacotherapeutic classes. Most antidepressants used to treat psychic diseases such as the Bipolar Depression (BD) and Major Depressive Disorder (MDD) do not have an immediate effect, as there is a lag in antidepressant action and also inter-individual variability in drug response<sup>2,21</sup>. In addition, although MDD patients are commonly treated with the SSRIs, a high number of them do not respond to current antidepressant therapy<sup>16,21,22</sup>. In addition, clinical symptoms are not enough to monitor treatment selection and, actually, treatments are selected empirically based on a trial and error approach<sup>23</sup>.

Metabolomics has been claimed as a promising new approach to better study depression and other neuropsychiatric diseases beyond being useful to study the effect of the SSRI in many diseases<sup>2,5,8</sup>. Using pharmacometabolomics will be interesting in MDD patients to ensure a significant improvement of clinical efficacy. On the other hand, TDM of SSRIs could be a cost-effective strategy even if only used in patients who do not respond to an initial trial of the usually effective minimum dose. Furthermore, the metabotype of a depressed patient at baseline and the biochemical changes induced by the treatment might provide relevant information about treatment outcomes in depression<sup>21</sup>. These issues will be detailed in the following sections.



Metabolomics has been used to identify disease-specific metabolic profiles and biomarkers of Central Nervous System (CNS) disorders, including MDD<sup>6</sup>.

Since last decades, most studies of mood disorders have focused in compounds including tryptophan (TRP), tyrosine, and purine metabolism for further investigation<sup>24</sup>. The TRP pathway along with its three branches of metabolism to serotonin/melatonin/5-hydroxyindoleacetate, kynurenine, and indole derivatives, seems to be affected in the depressed state<sup>25</sup>.

### **3.1. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors**

MDD is the most common psychiatric disorder worldwide but its causes are not still well known<sup>7,25,26</sup>. Besides that, a deficiency of the neurotransmitter serotonin might be related with the pathophysiology of MDD and as a result, drugs which increase the serotonin levels are usually used in these issues<sup>25</sup>.

SSRIs increase the serotonin levels in the central nervous system<sup>7</sup> because they block presynaptic neurotransmitter reuptake and thus they are currently the first line therapy for MDD<sup>27,28</sup>. With the administration of these drugs, this common psychiatric disorder could have an effective treatment but, it is worth underlining, once again, that the response to SSRIs is highly variable<sup>21</sup> and sometimes patients become refractory<sup>27</sup>.

It is thought that inheritance contributes both to MDD risk<sup>29</sup> and to variation in SSRI response<sup>30</sup>. In the literature, it has been referred some studies of candidate gene and Genome Wide Association Studies (GWAS) although with limitations<sup>7,31</sup>. Relative lack of power, variation in study design and phenotype heterogeneity may all contribute to this. On the other hand, interesting molecular pathways seem to be associated with antidepressant efficacy based on analyses of genome-wide data, while no individual gene showed convincing replication and thus could be considered a top candidate for developing clinical applications<sup>32</sup>. GWAS consists of a powerful study design to identify genetic variants of a trait and, in particular, detect the association between common single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and common human diseases such as heart disease, inflammatory bowel disease, type 2 diabetes, and psychiatric disorders<sup>33</sup>.

In order to identify genes associated with metabolites that were related to SSRI response, pharmacometabolomics-informed pharmacogenomics has been used<sup>7</sup>. This research strategy aimed at associating the individual variation of plasma concentrations of SSRIs and respective metabolites with treatment outcomes, it made use of GWAS to identify novel genes that might influence these metabolites concentrations during the SSRI therapy.

Firstly, plasma metabolomic profiles of 306 MDD patients treated with SSRI were used to identify metabolites correlated with SSRI clinical outcomes and then, the SNPs/genes associated with those metabolites concentrations for functional study in neuronal cell lines. Through this approach, it was possible to move from peripheral plasma metabolomics to genomics and then to test genomic candidates in neural cells. Thirty-one metabolites were quantified in plasma, primarily metabolites of tryptophan, tyrosine, purine and tocopherol pathways at three points: baseline, after 4 weeks and after 8 weeks of SSRI therapy. Then, the association of those metabolites with clinical response after 4 and 8 weeks of SSRI therapy. Clinical response (remission, response, percent change in 16-item Clinician-Rated of the Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS-C<sub>16</sub>) - a brief 16-item symptom severity rating scale that was derived from the longer form<sup>34</sup>).

The results showed that plasma serotonin concentrations at baseline as well as their change after 4 and 8 weeks of SSRI treatment were more highly associated with SSRI response phenotypes than those for any other metabolite<sup>7</sup> (Table 2).

**Table 2:** Association of plasma serotonin concentrations with clinical outcomes. *P*-Values < 0.05 have been bolded. Adapted from<sup>7</sup>.

Clinical outcomes	Remission at 4 weeks	Remission at 8 weeks	Response at 4 weeks	Response at 8 weeks
Baseline	<b>P=0.012</b> OR=1.41	<b>P=0.028</b> OR=1.31	<b>P=0.007</b> OR=1.40	<b>P=0.047</b> OR=1.30
Change after 4 weeks	<b>P=0.011</b> OR=1.40	<b>P=0.041</b> OR=1.27	<b>P=0.026</b> OR=1.31	P=0.060 OR=1.27
Change after 8 weeks	P=0.069 OR=1.27	P=0.147 OR=1.19	<b>P=0.037</b> OR=1.29	P=0.130 OR=1.21

The odds ratios (OR) higher than 1 indicates improvement being associated with higher baseline plasma serotonin concentrations. The results showed that higher baseline plasma serotonin concentrations as well as larger decreases in plasma serotonin concentrations between baseline and 4 or 8 weeks of therapy were both associated with better clinical outcomes<sup>7</sup>.

In addition, plasma serotonin concentrations in MDD patients were decreased significantly after 4 and 8 weeks of SSRI treatment when compared with baseline<sup>7</sup>.

Consequently, GWAS were performed using baseline plasma serotonin concentrations and change in plasma serotonin concentrations at 4 and 8 weeks of SSRI therapy as phenotypes. GWAS for baseline plasma serotonin concentrations revealed a genome-wide significant ( $P=7.84E-09$ ) SNP cluster on chromosome four 5' of *Tetraspanin* (TSPAN5) and a

cluster across *Glutamate-rich 3* (*ERICH3*) on chromosome one ( $P=9.28E-08$ ). These same SNP signals were observed in Manhattan plots of GWAS data (Manhattan plots represent the  $P$  values of the entire GWAS on a genomic scale<sup>35</sup>) for change in plasma serotonin concentrations after 4 and 8 weeks of SSRI therapy<sup>7</sup>. It was concluded that those genes were highly expressed in the brain. While variant *TSPAN5* SNP genotypes were associated with higher baseline plasma serotonin concentrations and greater decreases in plasma serotonin concentration during SSRI therapy, *ERICH3* variant allele genotypes were associated with lower baseline plasma serotonin concentrations and smaller decreases in plasma serotonin concentrations during SSRI therapy<sup>7</sup>.

Moreover, knocking down or overexpressing *TSPAN5* in a neuroblastoma cell line resulted in significant alterations in the expression of genes encoding serotonin pathway enzymes as well as changes in the concentration of serotonin in the cell culture media. Changes in *ERICH3* expression significantly altered media serotonin concentrations but did not influence serotonin pathway gene expression. So, knocking down and overexpressing of *ERICH3* did not alter the expression of genes encoding serotonin pathway enzymes but were associated with significant changes of serotonin concentrations in the cell culture media although the functional mechanism is unclear<sup>7</sup>.

To sum up, the application of a pharmacometabolomics informed pharmacogenomic research strategy allowed to identify two novel genes (*TSPAN5* and *ERICH3*) related to plasma serotonin concentration – a phenotype that was associated with SSRI clinical response. Among the metabolites analyzed, plasma serotonin concentrations and changes in plasma serotonin concentrations were associated with the largest number of SSRI treatment outcome measures. Specifically, patients with higher baseline plasma serotonin concentrations and/or greater decreases in plasma serotonin concentrations responded better to SSRI therapy.

A double-blind 4-week trial was performed enrolling MDD patients treated with placebo or sertraline. Serum samples were collected at baseline, one week and four weeks of treatment<sup>21</sup>. A detailed mapping of effects of sertraline and placebo was provided and changes in biochemical pathways were correlated with treatment outcomes<sup>21</sup>. The study analyzed changes within methoxyindole and kynurenine (KYN) branches of TRP pathway to determine whether differential regulation within these branches may contribute to mechanism of variation in response to treatment<sup>21</sup>. It is noteworthy that the metabotype of depressed patient at baseline and the biochemical changes induced by treatment correlate with treatment outcomes and can highlight heterogeneity in a complex disease such as depression<sup>21</sup>.

Starting with the sertraline group, a marked decrease in plasma concentration level of serotonin from baseline to both one and four weeks of the study, which is significantly larger

than that in the placebo group as illustrated in Table 3. However, decreased serotonin levels were also observed at week one in the patients receiving placebo but further investigation is required<sup>21</sup>.

**Table 3:** Metabolic changes after week one and four of treatment with sertraline and placebo. Adapted from<sup>21</sup>.

	Compound	Pathway	Sertraline	<i>P-Value</i>	Placebo	<i>P-Value</i>
			Change		Change	
Week one	Serotonin	Tryptophan	-0.75	2.80E-12	-0.21	0.014
Week four	Serotonin	Tryptophan	-1.9	8.70E-12	-0.018	0.78

Despite these findings, changes were observed regarding other metabolites involved in the tryptophan pathway; both at baseline and after treatment and the effects were different for responders and non-responders. Clinician-administered depression assessment scale, 17-item Hamilton Rating Scale for Depression (HAMD<sub>17</sub>), was used to assess clinical outcomes<sup>36</sup>. This scale provided a structured interview capturing the essence of the illness of depression in a simple reproducible manner<sup>36,37</sup>. Participants were considered responders if they showed a  $\geq 50\%$  percent reduction in HAMD<sub>17</sub> scores after four weeks of treatment. The results showed a significant positive correlation between baseline 5-methoxytryptamine (5-MTPM) levels and treatment response at four weeks, indicating that higher levels of 5-MTPM before treatment were associated with a more favorable response<sup>21</sup>. In addition, levels of 5-MTPM were significantly reduced over the four week treatment period, but only among good responders to sertraline<sup>21</sup>. Responders to placebo did not show reduction in 5-MTPM suggesting that decrease in this metabolite be a specific effect that is related to sertraline.

Moreover, considering responders group, levels of 5-Methoxytryptophol (5-MTPOL) and Melatonin (MEL) were significantly increased over the week four treatment period, while in the non-responders, levels of 5-MTPOL and MEL were not affected. On the other hand, neither KYN nor other metabolites within the KYN branch of tryptophan pathway were significantly altered in the sertraline group, suggesting that more favorable outcome of the sertraline treatment is more associated with the effect on methoxyindole branch of tryptophan pathway. In placebo responder group, significant increases in 5-MTPOL and MEL were also found, suggesting that response to sertraline and to placebo share some common mechanisms. In other words, it reflects that changes in depressed state is not related to the specific treatment which involves methoxyindole branch of tryptophan pathway.

A greater increase in 5-MTPOL and MEL levels was associated with a greater reduction

in HAMD<sub>17</sub> scores during four-week treatment period. These data hold on to hope that recovery from a depressed state after treatment with either drug or with placebo might be associated with preferential utilization of serotonin to produce MEL and 5-MTPOL, hormone-like molecules produced in the pineal gland and implicated in sleep cycles<sup>2</sup>.

Very recently, a clinical study was performed to evaluate the accuracy of a metabolomic signature of exposure and response to citalopram/escitalopram in depressed outpatients. A targeted electrochemistry-based metabolomics platform was applied to measure metabolomic profiles in MDD patients before and after SSRI treatment. In addition, 31 neurotransmission-related metabolites relevance was assessed in MDD pathophysiology that included compounds from the tryptophan, tyrosine, and purine metabolism pathway and then quantified in plasma samples from 290 MDD patients at baseline, 4, and 8 weeks of escitalopram/citalopram treatment. Metabolomic profiles were correlated with treatment response, defined as 50% reduction from baseline HAMD<sub>17</sub> scores.

The results showed that plasma serotonin concentration was the most significantly decreased metabolite in relation to the 31 metabolites after the drug treatment. As aforementioned, higher baseline serotonin levels were associated with better response to SSRI treatment. In this work, it was hence evidenced a hypothesis that might explain why patients with higher plasma serotonin concentrations responded better to SSRIs. Firstly, it is worth remembering that plasma serotonin originates from the enterochromaffin cells in the gut and gets actively absorbed and stored by blood platelets, which highly express the serotonin transporter SLC6A4<sup>25</sup>. However, SSRIs target SLC6A4 and inhibit serotonin uptake by platelets in blood. Therefore, a dramatic decrease in plasma serotonin concentration after the SSRI treatment can be expected in these patients. A higher concentration of plasma serotonin, which was stored in platelets, may reflect an elevated activity of the serotonin transporter, and, as a result, greater sensitivity to SSRIs in those patients.

Metabolic pathways related to TRP, tyrosine, and purine metabolism were found to be activated after the drug exposure. These findings are consistent with previous metabolomic study of sertraline, another SSRI, in depressed patients<sup>22</sup>, where perturbations in TRP, in particular, changes in methoxyindole pathway and the ratio of KYN/TRP were correlated with treatment outcomes. Overall, exposure to escitalopram/citalopram results in shifts in metabolism which suggest possible roles for the gut microbiome, oxidative stress, and inflammation-related mechanisms.

### 3.2. Metabolomics as a guide for ketamine therapy

Most of the drugs to treat BD and MDD are associated with a considerable lag in the onset of antidepressant action. In other words, there is a considerable latency in the onset of antidepressant effects, which typically take 6 weeks or more<sup>6</sup>, apart from existing a high inter-individual variability in response and many treatment resistant patients<sup>38,39</sup>. An example of these drugs are those that involve serotonergic and noradrenergic systems<sup>38,40</sup>.

New therapeutic targets have been explored in order to develop more effective and rapidly acting treatments. Ketamine has a rapid and significant antidepressant effect for many treatment resistant BD patients<sup>41</sup>. A pilot study with ketamine<sup>6</sup> was intended to establish a metabolomics approach which might allow to identify potential markers of ketamine response and non-response.

Through metabolomic studies, it was possible to conclude that fatty acids metabolism is significantly lower and shifted from  $\beta$ -oxidation to  $\omega$ -oxidation in depressed patients, compared with non-depressed controls<sup>37,41,42</sup>, supposing that  $\omega$ -oxidation is a subsidiary oxidation pathway of  $\beta$ -oxidation for the fatty acids when the  $\beta$ -oxidation is blocked<sup>44</sup>. In this way, mitochondrial function seems to be associated with disease state.

Ketamine is a NMDA receptor modulator which is under investigation for using in the treatment of depression and neuropathic pain<sup>6</sup>. A subanesthetic dose of ketamine was demonstrated to produce rapid antidepressant effects in patients diagnosed with BD<sup>45</sup> and MDD<sup>46</sup> and these effects can last up to 7 days<sup>41</sup>. A simultaneous population plasma pharmacokinetic model for ketamine and three of its major metabolites in 22 BD patients up to 3 days after ketamine administration<sup>41</sup>. The data suggested that at 230 min after infusion, (time point chosen for capturing clinical response or non-response), the clinical effect of ketamine robustly separated from placebo<sup>41,45,46</sup>.

In a following study, authors have used previous data<sup>41,45</sup> to produce metabolomic patterns. The metabolomic analysis was performed using plasma samples obtained from 22 treatment-resistant patients with BD who had received ketamine in a placebo-controlled crossover study<sup>41,45</sup>. The samples were obtained 230 min post-ketamine administration, at which time the patients were categorized as Rs or NRs. The initial aim of the study was to determine the global metabolomic markers associated with the clinical response of patients with BD to treatment with ketamine<sup>6</sup>. The study revealed that the response to ketamine by BD patients depends on the mitochondrial metabolism of fatty acids. It is known that mitochondrial function or dysfunction has been associated with mood disorders including BD

and particularly in this disease and may be associated with decreased energy production and a shift towards anaerobic glycolysis<sup>47</sup>.

To sum up, different biochemical characteristics were obtained between responders and non-responders patients and, these differences might be due to alterations in the mitochondrial metabolism of fatty acids. However, the differences in the metabolomics patterns between both groups were not produced by ketamine administration and it seems to set up the biochemical basis for the pharmacological response to ketamine. In addition, these differences were associated with disease-related dysregulation of mitochondrial function. Thus, pretreatment metabolomics screening may be a guide to the prediction of response and a potential approach to the individualization of ketamine therapy in BD.

On the other hand, at sub-anesthetic doses, ketamine is said to quickly decrease depression symptoms in patients with resistant MDD<sup>39</sup>. Accordingly<sup>39</sup>, a metabolomic mapping and potential mechanisms of action were traced, and biological pathways impacted by ketamine and esketamine (its *S*-ketamine enantiomer) by targeted and untargeted approaches. Metabolic signatures were compared and contrasted for both enantiomers using targeted and non-targeted approaches measuring 4400 metabolites on two metabolomics platforms in subjects with treatment-refractory MDD who received intravenous esketamine (n=20) or ketamine (n=33). Metabolic changes after treatment with ketamine or its *S*-enantiomer, esketamine, were evaluated and it was investigated whether such changes in some metabolites were correlated with treatment outcomes. Results showed significant metabolite changes that are detectable in blood within 2h of ketamine or esketamine treatment, and correlate with the antidepressant effect of ketamine up to 2 days post-treatment. Of the significant metabolite changes, the most notable ones regard the neurotransmitter-glutamic acid (glutamate), urea cycle and tryptophan metabolism.

Ketamine and its enantiomer altered metabolites related to tryptophan metabolism (for example, indole-3-acetate and methionine) and/or the urea cycle (for example, citrulline, arginine and ornithine) at 2h post infusion. Both drugs induced a decrease of metabolites related to tryptophan metabolism (indole-3-acetate and methionine), but there was an increase in the intermediates of the urea cycle (citrulline and ornithine) as a response to a decreased depression score. In addition, the data showed that tyrosine, the amino-acid precursor to dopamine, was decreased 2h following esketamine administration. It is known that dopamine block glucose dependent insulin release, what explains the increased blood glucose levels after ketamine administration. In addition, it was observed changes in phospholipids that were significantly associated with decreases in depression severity. Increased pre-treatment phospholipids (for example, lysophosphatidylcholines and

lysophosphatidylethanol amines) were detected in individuals that responded to ketamine within 6h versus those that did not respond.

#### **4. Pharmacometabolomics-informed Pharmacogenomics research strategy**

Using metabolomic and genomic data to study SSRIs has revealed to be a potential strategy to better study MDD<sup>27</sup>. Accordingly, genotyped 131 tag SNPs for six genes encoding enzymes in the glycine synthesis and degradation pathway using DNA from 529 depressed patients treated with citalopram/escitalopram to pursue a glycine metabolomics 'signal' associated with selective serotonin reuptake inhibitor response. Glycine was identified as being a potential marker for SSRI treatment outcome using a Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS) metabolomic platform in addition to DNA sequence variation in genes encoding enzymes involved in glycine synthesis and degradation might be associated with outcomes of treatment<sup>27,48</sup>.

Accordingly, using pre-treatment metabolomic profiles was important to test the hypothesis that genetic variations might contribute to the observed variations in this metabolomic signature. Baseline plasma glycine level was negatively associated with escitalopram treatment outcome, compatible with the conclusion that elevated levels of glycine might be a marker for decreased SSRI response<sup>27</sup>.

Genotyping tag SNP for genes encoding the relevant enzymes allowed to identify an SNP in the glycine dehydrogenase gene, Glycine Dehydrogenase (GLDC), using 529 DNA samples from SSRI-treated MDD patients. Thus, it was identified one marker, rs10975641, a SNP in the GLDC, associated with multiple SSRI treatment outcomes phenotypes.

With a further study<sup>48</sup> was established the hypothesis that pharmacometabolomic data could be efficiently merged with pharmacogenomic data, through a genome-wide SNP genotyping of the DNA samples from SSRI-treated patients. Previously, it has been used a tag SNP strategy<sup>27</sup> which made it possible to impute SNPs for genome regions containing the six genes of interest for the glycine synthesis and degradation pathway. The analysis of genetic variation was obtained using HapMap and '1000 Genomes' imputation and provided a much higher resolution and much more comprehensive coverage of sequence variation than the previous study, with a total of 1578 SNPs from HapMap and 11154 SNPs from 1000 'Genomes' data for the six candidate genes.

A practical advantage of the use of imputation is the ability to comprehensively study genetic variation within a region of interest without additional genotyping time or expense.



The imputation using '1000 Genomes' data results in an advantage for the increasing in coverage and resolution.

GLDC was the most important "glycine synthesis and degradation pathway" gene of the six candidate genes analyzed for association with SSRI outcomes in patients with MDD, as referred in the previous study<sup>27</sup>. It found that imputation using both HapMap and '1000 genomes' datasets provided similar estimated genotype data for many of the SNPs genotyped, but they also identified many more SNPs within and surrounding sequences for the six genes studied, significantly altering subsequent functional genomic experiments. A great advantage of imputation is that it can effectively and rapidly focus on appropriate variants in or around a gene for possible functional pursuit.

The strategy proposed here represents a useful approach for merging other "omics" data with pharmacogenomics. This approach is increasingly important to achieve hidden information that would otherwise not be there. The results demonstrated that use of GWAS data to impute SNPs with "1000 genomes" data can improve pharmacogenomic candidate gene/pathway studies because the analysis is wider<sup>48</sup>. With these studies made it possible to directly compare the tag SNP approach with the use of imputation based on GWAS SNP data, what allowed to emphasize, in a cost-effective manner, that the candidate gene/pathway studies analysis could be accelerated and broadened. It is known that imputation of genomic data has been widely applied, but the purpose was to highlight its use to rapidly merge data from other "omics" disciplines with pharmacogenomic studies and to allow these "omics" disciplines to inform each other.

## 5. Conclusion

During several years, researchers and clinicians have always attempted to tailor the treatment to individual patients. However, in complex diseases such as psychiatric disorders, which have multiple different underlying pathophysiologic mechanisms, the traditional approaches have been disappointing. Pharmacogenetics, with a focus on single genes and their impact on drug response, has evolved into pharmacogenomics with the application of genome-wide studies of drug clinical phenotypes. However, pharmacogenomics is not able to alone predict drug response. Technological advances based on different “omics” data are being successful to identify both underlying molecular pathways and important variation in the genes. The addition of other “omics” data represents one strategy that will clearly be an important progress to get a precision medicine.

It is now possible to integrate information from different areas to increase the understanding of the molecular basis for variation in disease risk and/or drug response phenotypes. In fact, metabolomic data combined with genomics gain novel insight into mechanisms associated with variation in drug response phenotypes. Moreover, metabolomics appears to be most closely related to clinical phenotypes what it is particularly useful to study complex diseases. It is a useful tool to guide and inform subsequent genomic studies. A pharmacometabolomics-informed pharmacogenomic research strategy helps to identify metabolomic profile associated with variation in pharmacological response followed by the identification of SNPs/genes that are associated with metabolomic profiles.

In spite of the significant progress in the treatment of neuropsychiatric disorders, several patients do not respond or do not tolerate current pharmacotherapies. The development of more broadly effective treatments supports the feasibility of using metabolomics as a tool for understanding individual variation in response to pharmacotherapy for MDD and hence sub-classify patients with depression. Moreover, identifying metabolites and using them as biomarkers and establish the direct physiological roles of metabolites and their involvement in metabolic networks, as well as determining how changes in their levels are implicated in different phenotypic outcomes seems to be a strategy to realize precision medicine.

Lastly, pharmacometabolomics will represent an extraordinary challenge in the drug discovery pipeline. During this work, it became clear that genetics alone is not sufficient for deciphering intra and inter-individual variations in drug-response. The association between pharmacogenomics and pharmacometabolomics is most likely to be considered as a new tool to realize personalized medicine since and which will certainly support a clinical decision.

## 6. References

1. WEINSHILBOUM, R. - **Inheritance and Drug Response**. *New England Journal of Medicine*, 348:6 (2003) 529–537.
2. KADDURAH-DAOUK, R., WEINSHILBOUM, R. M. - **Pharmacometabolomics: Implications for clinical pharmacology and systems pharmacology**. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 95:2 (2014) 154–167.
3. MOTULSKY A. G., MING, Q. - **Pharmacogenetics, pharmacogenomics and ecogenetics**. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 7:2 (2006) 169–170.
4. EVANS, W. E., MCLEOD, H. L. - **Pharmacogenomics - Drug Disposition, Drug Targets and Side Effects**. *The New England Journal of Medicine*, 348:6 (2003) 538–549.
5. KADDURAH-DAOUK, R., KRISTAL, B. S., WEINSHILBOUM, R. M. - **Metabolomics: A Global Biochemical Approach to Drug Response and Disease**. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 48:1 (2008) 653–683.
6. VILLASEÑOR, A., RAMAMOORTHY, A., SILVA dos SANTOS, LORENZO, M. P., LAJE, G., ZARATE, C., BARBAS, C., WAINER, I. W. - **A pilot study of plasma metabolomic patterns from patients treated with ketamine for bipolar depression: evidence for a response-related difference in mitochondrial networks**. *British Journal of Pharmacology*, 171:8 (2014) 2230–2242.
7. GUPTA, M., NEAVIN, D., LIU, D. BIERNACKA, J., HALL-FLAVIN, D., BOBO, W. V., FRYE, M. A., SKIME, M., JENKINS, G. D., BATZLER, A., KALARI, K., MATSON, W., BHASIN, S. S., ZHU, H., MUSHIRODA, T., NAKAMURA, Y., KUBO, M., WANG, L., KADDURAH-DAOUK, R., WEINSHILBOUM, R. M. - **TSPAN5, ERICH3 and selective serotonin reuptake inhibitors in major depressive disorder: Pharmacometabolomics-informed pharmacogenomics**. *Molecular Psychiatry*, 21:12 (2016) 1717–1725.
8. KADDURAH-DAOUK, R., KRISHNAN, K. R. R. - **Metabolomics: A Global Biochemical Approach to the Study of Central Nervous System Diseases**. *Neuropsychopharmacology Reviews*, 34:1 (2009) 173–186.
9. CLAYTON, T. A., LINDON, J.C., CLOAREC, O. ANTTI, H., CHARUEL, C., HANTON, G., PROVOST, J.-P., NET, J.-L. L., BAKER, D., WALLEY, R. J., EVERETT, J. R., NICHOLSON, J. K. - **Pharmaco-metabonomic phenotyping and personalized drug treatment**. *Nature*, 440:7087 (2006) 1073–1077.
10. KANTAE, V., KREKELS, E. H. J., ESDONK, M. J. V., LINDENBURG, P., HARMS, A. C., KNIBBE, C. A. J., VAN DER GRAAF, P. H., HANKEMEIER, T. - **Integration of pharmacometabolomics with pharmacokinetics and pharmacodynamics: towards personalized drug therapy**. *Metabolomics*, 13:1 (2016) 1–11.
11. US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE - **What is pharmacogenomics? - Genetics Home Reference - NIH**. [Accessed april 20, 2020]. Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/genomicresearch/pharmacogenomics#skip>
12. CARR, D. F., ALFIREVIC, A., PIRMOHAMED, M. - **Pharmacogenomics: Current state-of-the-art**. *Genes*, 5:2 (2014) 430–443.

13. JOHNSON, C. H., IVANISEVIC, J., SIUZDAK, G. - **Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms.** *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 17:7 (2016) 451–459.
14. NEAVIN, D., KADDURAH-DAOUK, R., WEINSHILBOUM, R. - **Pharmacometabolomics informs pharmacogenomics.** *Metabolomics*, 12:7 (2016) 1–6.
15. SHIN, K. H., CHOI, M. H., LIM, K. S., Yu, K. S., JANG, I. J., CHO, J. Y. - **Evaluation of endogenous metabolic markers of hepatic CYP3A activity using metabolic profiling and midazolam clearance.** *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 94:5 (2013) 601–609.
16. MUSSAP, M., LODDO, C., FANNI, C., FANOS, V. - **Metabolomics in pharmacology - a delve into the novel field of pharmacometabolomics.** *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 13:2 (2020) 115–134.
17. PHAPALE, P. B., KIM, S-D., LEE, H. W., LIM, M., KALE, D. D., KIM, Y. L., CHO, J. H., HWANG, D., YOON, Y. R. - **An Integrative Approach for Identifying a Metabolic Phenotype Predictive of Individualized Pharmacokinetics of Tacrolimus.** *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 87:4 (2010) 426–436.
18. HUANG, Q., AA, J., JIA, H., XIN, X., TAO, C., LIU, L., ZOU, B., SONG, Q., SHI, J., CAO, B., YONG, Y., WANG, G., ZHOU, G. - **A Pharmacometabonomic Approach to Predicting Metabolic Phenotypes and Pharmacokinetic Parameters of Atorvastatin in Healthy Volunteers.** *Journal of Proteome Research*, 14:9 (2015) 3970–3981.
19. MUHREZ, K., BENZ-BRETAGNE, I., NADAL-DESBARATS, L., BLASCO, H., GYAN, E., CHOQUET, S., MONTIGNY, F., EMOND, P., BARIN-LE-GUELLEC, C. - **Endogenous metabolites that are substrates of organic anion transporter's (OATs) predict methotrexate clearance.** *Pharmacological Research*, 118 (2017) 121–132.
20. KADDURAH-DAOUK, R., BAILLIE, R. A., ZHU, H., ZENG, Z. B., WIEST, M. M., NGUYEN, U. T., WOJNOONSKI, K., WATKINS, S. M., TRUPP, M., KRAUSS, R. M. - **Enteric Microbiome Metabolites Correlate with Response to Simvastatin Treatment.** *PLoS ONE*, 6:10 (2011).
21. ZHU, H., BOGDANOV, M. B., BOYLE, S. H., MATSON, W., SHARMA, S., MATSON, S., CHURCHILL, E., FIEHN, O., RUSH, J. A., KRISHNAN, R. R., PICKERING, E., DELNOMDEDIEU, M., KADDURAH-DAOUK, R. - **Pharmacometabolomics of Response to Sertraline and to Placebo in Major Depressive Disorder - Possible Role for Methoxyindole Pathway.** *PLoS ONE*, 8:7 (2013) 1–12.
22. KADDURAH-DAOUK, R., BOYLE, S. H., MATSON, W. SHARMA, S., MATSON, S., ZHU, H., BOGDANOV, M. B., CHURCHILL, E., KRISHNAN, R. R., RUSH, A. J., PICKERIN, E., DELNOMDEDIEU, M. - **Pretreatment metabotype as a predictor of response to sertraline or placebo in depressed outpatients: a proof of concept.** *Translational Psychiatry*, 1:7 (2011) e26-7.
23. RUSH, A. J., TRIVERDI, M. H., WISINIEWSKI, S. R., NIERENBERG, A. A., STEWART, J. W., WARDEN, D., NIEDEREHE, G., THASE, M. E., LAVORI, P. W., LEBOWITZ, B. D.,

- MCGRATH, P. J., ROSENBAUM, J. F., SACKEIM, H. A., KUPFER, D. J., LUTHER, J., FAVA, M. - **Acute and Longer-Term Outcomes in Depressed Outpatients Requiring One or Several Treatment Steps: A STAR\*D Report.** *American Journal of Psychiatry*, 163:11 (2006) 1905–1917.
24. PAIGE, L. A., MITCHELL, M. W., KRISHNAN, K. R. R., KADDURAH-DAOUK, R., STEFFENS, D. C. - **A preliminary metabolomic analysis of older adults with and without depression.** *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 22 (2007) 418–423.
25. BHATTACHARYYA, S., AHMED, A.T., ARNOLD, M., LIU, D., LUO, C., ZHU, H., MAHMOUDIANDHEKORDI, S., NEAVIN, D., LOUIE, G., DUNLOP, B.W., FRYE, M. A., WANG, L., WEINSHILBOUM, R.M., KRISHNAN, R.R., RUSH, A. J., KADDURAH-DAOUK, R. - **Metabolomic signature of exposure and response to citalopram/escitalopram in depressed outpatients.** *Translational Psychiatry*, 9:1 (2019) 1–14.
26. KESSLER, R. C., BERGLUND, P., DEMLER, O., JIN, R., KORETZ, D., MERIKANGAS, K. R., RUSH, A. J., WALTERS, E. E., WANG, A. - **The Epidemiology of Major Depressive Disorder.** *Journal of the American Medical Association*, 289:23 (2003) 3095–3105.
27. JI, Y., HEBBRING, S., ZHU, H., JENKINS, G. D., BIERNACKA, J., SNYDER, K., DREWS, M., FIEHN, O., ZENG, Z., SCHAID, D., MRAZEK, D. A., KADDURAH-DAOUK, R., WEINSHILBOUM, R. M. - **Glycine and a glycine dehydrogenase (GLDC) SNP as citalopram/escitalopram response biomarkers in depression: Pharmacometabolomics-informed pharmacogenomics.** *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 89:1 (2011) 97–104.
28. TREVIÑO, L. A., RUBLE, M. W., TREVIÑO, K., WEINSTEIN, L. M., GRESKY, D. P. - **Antidepressant Medication Prescribing Practices for Treatment of Major Depressive Disorder.** *Psychiatric Services*, 68:2 (2017) 199–202.
29. BIERUT, L. J., HEATH, A. C., BUCHOLZ, K. K., DINWIDDIE, S. H., MADDEN, P. A. F., STATHAM, D.J., DUNNE, M.P., MARTIN, N. G. - **Major Depressive Disorder in a Community-Based Twin Sample.** *Archives of General Psychiatry*, 56 (1999) 557–563.
30. SERRETTI, A., BENEDETTI, F., ZANARDI, R. SMERALDI, E. - **The influence of Serotonin Transporter Promoter Polymorphism (SERTPR) and other polymorphisms of the serotonin pathway on the efficacy of antidepressant treatments.** *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29:6 (2005) 1074–1084.
31. SANSEAU, P., AGARWAL, P., BARNES, M. R., PASTINEN, T., RICHARDS, J. B., CARDON, L. R., MOOSER, V. - **Use of genome-wide association studies for drug repositioning.** *Nature Biotechnology*, 30:4 (2012) 317–320.
32. FABBRI, C., SERRETTI, A. - **Pharmacogenetics of Major Depressive Disorder: Top Genes and Pathways Toward Clinical Applications.** *Current Psychiatry Reports*, 17:7 (2015).
33. CHANG, M., HE, L., CAI, L. - **An Overview of Genome-Wide Association Studies.** In *Computational Systems Biology: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology, ISBN 9781493977178. v.1754. (2018) p. 97–108.

34. RUSH, A. J., TRIVERDI, M. H., IBRAHIM, H. M. CARMODY, T. J., ARNOW, B., KLEIN, D. N., MARKOWITZ, J. C., NINAN, P.T., KORNSTEIN, S., MANBER, R., THASE, M. E., KOCSIS, J.H., KELLER, M. B. - **The 16-Item Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS), Clinician Rating (QIDS-C), and Self-Report (QIDS-SR): A Psychometric Evaluation in Patients with Chronic Major Depression.** *Biol Psychiatry*, 54:5 (2003) 573–583.
35. EHRET, G. B. - **Genome-Wide Association Studies: Contribution of Genomics to Understanding Blood Pressure and Essential Hypertension.** *Current Hypertension Reports*, 12:1 (2010) 17–25.
36. HAMILTON, M. - **A Rating Scale for Depression.** *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 23 (1960) 56–62.
37. NUTT, D. - **The Hamilton Depression Scale - accelerator or break on antidepressant drug discovery?** *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 85:2 (2014) 119–120.
38. MACHADO-VIEIRA, R., SALVADORE, G., LUCKENBAUGH, D. A., MANJI, H. K., ZARATE, C. A. - **Rapid Onset of Antidepressant Action: A New Paradigm in the Research and Treatment of Major Depression.** *Journal of Clinical Psychiatry*, 69:6 (2008) 946–958.
39. ROTROFF, D. M., CORUM, D. G., MOTSINGER-REIF, A., FIEHN, O., BOTTREL, N., DREVETS, W. C., SINGH, J., SALVADORE, G., KADDURAH-DAOUK, R. - **Metabolomic signatures of drug response phenotypes for ketamine and esketamine in subjects with refractory major depressive disorder: New mechanistic insights for rapid acting antidepressants.** *Translational Psychiatry*. 6:9 (2016) 1–10.
40. BURKE, M. J., PRESKORN, S. H. - **Therapeutic Drug Monitoring of Antidepressants. Cost Implications and Relevance to Clinical Practice.** *Clinical Pharmacokinetics*. 37:2 (1999) 147–165.
41. ZARATE, C. A., BRUTSCHE, N., LAJE, G., LUCKENBAUGH, D. A., VENKATA, S. L. V., RAMAMOORTHY, A., MOADDEL, R., WAINER, I. W. - **Relationship of Ketamine's Plasma Metabolites with Response, Diagnosis, and Side Effects in Major Depression.** *Biological Psychiatry*. 72:4 (2012) 331–338.
42. MAES, M., SMITH, R., CHRISTOPHE, A., COSYNS, P., DESNYDER, R., MELTZER, H. - **Fatty acid composition in major depression: decreased  $\omega$ 3 fractions in cholesteryl esters and increased C20: 4 $\omega$ 6/C20: 5 $\omega$ 3 ratio in cholesteryl esters and phospholipids.** *Journal of Affective Disorders*. 38:1 (1996) 35–46.
43. STEFFENS, D. C., JIANG, W., KRISHNAN, K. R. R., KAROLY, E. D., MITCHELL, M. W., O'CONNOR, C. M., KADDURAH-DAOUK, R. - **Metabolomic Differences in Heart Failure Patients With and Without Major Depression.** *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 23:2 (2010) 138–146.
44. MIURA, Y. - **The biological significance of  $\omega$ -oxidation of fatty acids.** *Proceedings of the Japan Academy Series B: Physical and Biological Sciences*, 89:8 (2013) 370–382.

45. DIAZGRANADOS, N., IBRAHIM, L., BRUTSCHE, N., NEWBERG, A., KRONSTEIN, P., KHALIFE, S., KAMMERER, W. A., QUEZADO, Z., LUCKENBAUGH, D. A., SALVADORE, G., MACHADO-VIEIRA, R., MANJI, H. K., ZARATE, C. A. - **A Randomized Add-on Trial of an N-methyl-D-aspartate Antagonist in Treatment-Resistant Bipolar Depression.** *Archives of General Psychiatry*, 67:8 (2010) 793–802.
46. ZARATE, C. A., SINGH, J. B., CARLSON, P. J., BRUTSCHE, N. E., AMELI, R., LUCKENBAUGH, D. A., CHARNEY, D. S., MANJI, H. K. - **A Randomized Trial of an N-methyl-D-aspartate Antagonist in Treatment-Resistant Major Depression.** *Archives of General Psychiatry*, 63:8 (2006) 856–864.
47. MINUZZI, L., BEHR, G. A., MOREIRA, J. C. F., FREY, B. N. - **Mitochondrial Dysfunction in Bipolar Disorder: Lessons from Brain Imaging and Molecular Markers.** *Revista Colombiana de Psiquiatría*. 40 (2011) 166S–182S.
48. ABO, R., HEBBRING, S., JI, Y., ZHU, H., ZENG, Z.-B., BATZLER, A., JENKINS, G. D., BIERNACKA, J., SNYDER, K., DREWS, M., FIEHN, O., FRIDLEY, B., SCHAID, D., KAMATANI, N., NAKAMURA, Y., KUBO, M., MUSHIRODA, T., KADDURAH-DAOUK, R., MRAZEK, D. A., WEINSHILBOUM, R. M. - **Merging pharmacometabolomics with pharmacogenomics using ‘1000 Genomes’ single-nucleotide polymorphism imputation: Selective serotonin reuptake inhibitor response pharmacogenomics.** *Pharmacogenetics and Genomics*. 22:4 (2012) 247–253.