



**Linnéuniversitetet**

Institutionen för Kemi och Biomedicin

Examensarbete

Kan Entresto ersätta ACE-hämmare vid hjärtsvikt och är den behandlingen optimal med avseende på farmakogenetiken?

Hevi Abdulsalam Muhammednouri  
Huvudområde: Farmaci  
Nivå: Grundnivå  
Nr: X

# Kan Entresto ersätta ACE-hämmare vid hjärtsvikt och är den behandlingen optimal med avseende på farmakogenetiken?

*Hevi Abdulsalam Muhammednouri*

**Examensarbete i Farmaci 15hp  
Filosofie kandidatexamen  
Farmaceutprogrammet 180hp  
Linnéuniversitetet, Kalmar**

## **Handledare**

Ran Friedman, universitetslektor  
i kemi och forskningsgruppledare

Inst. för Kemi och Biomedicinsk Vetenskap  
Linnéuniversitetet  
SE-391 82 KALMAR

## **Examinator**

Sinisa Bjelic, universitetslektor

Inst. för Kemi och Biomedicinsk Vetenskap  
Linnéuniversitetet  
SE-391 82 KALMAR

## **Sammanfattning**

Omkring 200 000–250 000 personer lider av hjärtsvikt i Sverige. Hjärtsvikt är ett tillstånd med nedsatt pumpförmåga hos hjärtat. Tillståndet resulterar i minskad livskvalité, hög morbiditet och mortalitet. Det har gjorts många försök för att hitta lämpliga läkemedelsmål som kan minimera dessa konsekvenser. Neurohormonella kompensatoriska mekanismer, exempelvis renin-angiotensin II-aldosteron-systemet, syftar till att återställa blodtrycket till normala nivåer igen efter för lågt blodtryck men på längre sikt ökar det även belastningen på hjärtat. Via detta system aktiveras hormonet angiotensin II som står för den ökade belastningen. Hormonet har därför varit ett viktigt läkemedelsmål för ACE-hämmare (ACEI) och AT1-antagonister (ARB) för att förhindra blodtryckshöjning. Enzymet neprilysin är ett annat läkemedelsmål, som inhiberas av läkemedelsklassen neprilysin-hämmare. Läkemedlet Entresto är en kombination av ARB och neprilysin-hämmare. Den neprilysin-hämmande komponenten, sakubitril, aktiveras av karboxylesteras 1 (CES1) men mutationer i genen som kodar för enzymet kan leda till utebliven terapeutisk effekt. Dessutom kan patienter med vildtyp CES1 riskera oacceptabla biverkningar som rabdomyolys och Alzheimer's sjukdom. Syftet med arbetet är att undersöka om Entresto kan ersätta ACE-hämmare vid hjärtsvikt och om den behandlingen är optimal med avseende på farmakogenetiken.

Arbetet är en litteraturstudie med vetenskapliga artiklar hämtade från databasen PubMed och via Linnéuniversitetets sökverktyg, OneSearch. I arbetet har fem studier analyserats (I-V). Studierna visar att Entresto är överlägsen enalapril genom att minska hjärtsviktshospitalisering och dödsfall på grund av kardiovaskulära orsaker. Dock är läkemedelseffekten av Entresto beroende av en fungerande CES1-gen eftersom mutationer som G143E orsakar utebliven terapeutisk effekt. Enalapril har visat sig vara oberoende av sådana mutationer. Teoretiskt sett kan en hämning av neprilysin ge upphov till ackumulering av amyloid- $\beta$ -peptider ( $A\beta$ ), vilket associeras med Alzheimer's sjukdom. Studie IV, vars syfte var att undersöka vilken inverkan Entresto har på  $A\beta$ -isoformer, visade inga förändrade  $A\beta$ -koncentrationer i cerebrospinalvätska. Dock behövs vidare studier med längre durationstid. Däremot visar studie V att en kombination av Entresto och statiner ökar plasmakoncentrationen av statiner, vilket i sin tur ökar risken för att utveckla rabdomyolys. Slutsatsen blir att det inte är optimalt att ersätta enalapril med Entresto vid hjärtsvikt med avseende på farmakogenetik.

## ABSTRACT

Around 200,000–250,000 people suffer from heart failure in Sweden. Heart failure is a condition of impaired heart pumping capacity. The condition results in reduced quality of life, high morbidity and mortality and there have been many attempts to find suitable drug targets to minimize these consequences. Neurohormonal compensatory mechanisms, such as renin–angiotensin–aldosterone system, aim to restore blood pressure to normal levels again but in the long-term it also increases the stress on the heart. The hormone angiotensin II gets activated through this mechanism and is the reason behind the increased stress. Therefore, the hormone has been an important drug target for ACE inhibitors (ACEI) and AT1 blockers (ARB) to prevent antihypertensive effects. The enzyme neprilysin is another drug target whose inhibition is accomplished by using neprilysin inhibitors. Entresto® is a new medication that contains a neprilysin inhibitor and an ARB. The neprilysin inhibitory component, sacubitril, is activated by carboxylesterase 1 (CES1) but mutations in the gene encoding CES1 may cause a non-therapeutic effect. Additionally, patients with wild-type CES1 may risk unacceptable side effects such as rhabdomyolysis and Alzheimer's disease. The objective of this study is to investigate whether replacement of ACE inhibitors with Entresto is optimal in heart failure with regard to pharmacogenetics.

This study is organized as a literature study in which five scientific articles (I-V) were analyzed and selected from PubMed database and through Linnaeus University's search engine, OneSearch. The studies show that Entresto is superior to enalapril in reducing the risk for cardiovascular death or hospitalization for heart failure. However, the effects of Entresto is dependent on a functioning CES1 gene because mutations like G143E cause a non-therapeutic effect. Enalapril has shown to be independent of such mutations.

Theoretically, inhibition of neprilysin may cause accumulation of amyloid- $\beta$  peptides ( $A\beta$ ), which associates with Alzheimer's disease. Study IV, with the purpose to investigate the effect of Entresto on  $A\beta$  isoforms, showed no significant change in  $A\beta$  concentrations in cerebrospinal fluid. However, further studies with longer duration were suggested. On the other hand, study V shows that a combination of Entresto and statins increases the plasma concentration of statins. That in turn would increase the risk of a development of rhabdomyolysis. The conclusion is that it is not optimal to replace enalapril with Entresto in heart failure with regard to pharmacogenetics.

## FÖRKORTNINGAR

A $\beta$ -peptider = Amyloid- $\beta$  peptider  
ACE = Angiotensinkonverterande enzym  
ACEI = Angiotensinkonverterande enzym-inhiberare  
AD = Alzheimer's sjukdom  
ALT = Alanin transaminas  
ANP = Atriell natriuretisk peptid  
ARB = AT1-antagonister  
ARR = Absolut riskreduktion  
AST = Aspartat transaminas  
AT1R = AT1-receptorn  
AUC = Areal under plasmakoncentrationskurvan  
BID = Bis in die  
BNP = B-typ natriuretisk peptid  
C<sub>max</sub> = Maximal plasmakoncentration  
CES1 = Karboxylesteras 1  
CES2 = Karboxylesteras 2  
CMV = Cytomegalovirus  
CNP = C-type natriuretisk peptid  
CPK = Kreatinfosfatkinas  
CSF = Cerebrospinalvätskan  
EF = Ejektionsfraktion  
EMA = Europeiska läkemedelsmyndigheten  
ER = Efter randomisering  
FDA = United States Food and Drug Administration  
GCP = Good Clinical Practice  
HIS9 = Human tarm  
HIV = Humant Immunbrist-Virus  
HKS9 = Human njure  
HLS9 = Human lever  
HSV = Herpes simplex virus  
n = Antal deltagare  
NNT = Number needed to treat  
NP = Natriuretisk peptid  
nsSNP = Icke-synonyma enbaspolymorfier  
NYHA = New York Heart Association  
OATP = Organic anion transporting polypeptides  
QD = Quaque die  
RAAS = Renin-angiotensin II-aldosteron-systemet  
SAR = Struktur-effekt-samband  
t<sub>1/2</sub> = Halveringstid  
t<sub>max</sub> = Tid för att nå C<sub>max</sub>  
TLV = Tandvårds- och läkemedelsförmånsverket

## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

<b>INTRODUKTION .....</b>	<b>6</b>
<i>Hjärtsvikt .....</i>	<i>6</i>
Definition, Etiologi & Epidemiologi .....	6
Patofysiologi.....	7
Farmakologisk & Icke farmakologisk behandling .....	8
<i>Entresto (sakubitril/valsartan) .....</i>	<i>9</i>
<i>Karboxylesteras .....</i>	<i>11</i>
<i>Konsekvenser hos patienter med vildtyp CES1 .....</i>	<i>14</i>
Alzheimer's sjukdom .....	14
Rabdomyolys.....	14
<b>SYFTE.....</b>	<b>16</b>
<b>MATERIAL OCH METODER .....</b>	<b>16</b>
<b>RESULTAT .....</b>	<b>16</b>
<i>STUDIE I: Angiotensin–Nepriylsin Inhibition versus Enalapril in Heart Failure (9).....</i>	<i>16</i>
Syfte & metod studie I .....	16
Resultat studie I .....	17
<i>STUDIE II: The Pharmacokinetics of Enalapril in Relation to CES1 Genotype in Healthy Danish Volunteers (10).....</i>	<i>19</i>
Syfte & metod studie II.....	19
Resultat studie II.....	20
<i>STUDIE III: Sacubitril is Selectively Activated by Carboxylesterase 1 (CES1) in the Liver and the Activation is Affected by CES1 Genetic Variation (20).....</i>	<i>20</i>
Syfte & metod studie III.....	20
Resultat studie III.....	21
<i>STUDIE IV: The effect of LCZ696 (sacubitril/valsartan) on amyloid-β concentrations in cerebrospinal fluid in healthy subjects (35).....</i>	<i>22</i>
Syfte & metod studie IV .....	22
Resultat studie IV.....	22
<i>STUDIE V: Rhabdomyolysis After Coadministration of Atorvastatin and Sacubitril/Valsartan (Entresto™) in a 63-Year-Old Woman (58).....</i>	<i>23</i>
Syfte & metod studie V.....	23
Resultat studie V.....	23

<b>DISKUSSION .....</b>	<b>24</b>
<b>SLUTSATS .....</b>	<b>28</b>
<b>TACKORD .....</b>	<b>28</b>
<b>REFERENSER .....</b>	<b>29</b>

## INTRODUKTION

### *Hjärtsvikt*

#### **Definition, Etiologi & Epidemiologi**

Hjärtsvikt definieras som ett tillstånd med nedsatt förmåga att upprätthålla tillräcklig minutvolym för att försörja kroppen med adekvat blodtillförsel trots ett normalt fyllnadstryck (1). Tillståndet kan förekomma i en kronisk eller akut form där den kroniska har ett mer långsamt förlopp. Akut hjärtsvikt kan vara det primära tillståndet men även en akut försämring av kronisk hjärtsvikt (2).

NYHA (New York Heart Association) är en funktionsklassificering där tillståndets svårighetsgrad indelas i 4 klasser, I-IV. I denna har svårighetsgraden även delats in i olika prognosklasser där patienten visar sämre prognos ju högre upp patienten kommer i NYHA-klass. Mortaliteten för de sjukaste patienterna (klass IV) estimeras till 40–50% per år, vilket ofta är en sämre prognos jämfört med många cancersjukdomar. Hjärtsvikt är ett av de vanligast diagnostiserade tillstånden i Sverige och är även ett globalt problem med en prevalens runt 1–2% som ökar i många länder (3). I Sverige beräknas antalet patienter ligga omkring 200 000–250 000 och prevalensen av befolkningen som lider av hjärtsvikt kan uppskattas till 2–3%. Tillståndet är kraftigt åldersrelaterat eftersom ungefär var tionde person > 80 år visar en symptomgivande hjärtsvikt. Medelåldern för dessa patienter ligger på 75 år och hjärtsvikt är den vanligaste orsaken till hospitalisering hos patienter med en ålder > 65. Det är männen som dominerar bland de sjukhusvårdade patienterna (4).

Kardinalsymtom hos hjärtsviktspatienter är dyspné (andnöd) och trötthet med eller utan ansträngning. Andnöden och tröttheten är ett resultat av syre- och näringsbristen i vävnaderna. Andra symtom är nokturi, aptitlöshet, viktuppgång, hjärtklappningar, palpitationer samt nedsatt allmäntillstånd (1, 2). För att diagnostiska kriterier ska uppfyllas bör patienten ha dessa symtom samt kliniska fynd vanliga vid hjärtsvikt som ödem av olika slag (ex lungödem, perifera ödem), lunggrassel, 3:e hjärtton, takykardi m.m. (1).

*Ejektionsfraktion* (EF) är ett begrepp som mäter den systoliska hjärtfunktionen, dvs. då hjärtat sätts i arbete. Det är kvoten mellan slagvolym och den diastoliska volymen, dvs. blodvolymen i hjärtkammaren vid vila.  $EF = > 50\%$  visar normal hjärtfunktion (4). Ett värde på EF runt 40–49% tyder på att den systoliska funktionen är lätt nedsatt. Entresto är ett exempel på läkemedel med indikationen kronisk hjärtsvikt med nedsatt EF. En EF på 30–39% indikerar tidigare genomgången hjärtinfarkt medan  $< 30\%$  tyder på en uttalad nedsatt EF (5, 6).

I princip kan många hjärtsjukdomar leda till hjärtsvikt men de vanligaste bakomliggande orsakerna är hypertoni och ischemisk hjärtsjukdom. En viktig

mekanism för tillståndsutvecklingen hos hjärtsviktpatienter är en vänsterkammerhypertrofi som utvecklas då hjärtats arbetsbelastning ökar. Detta kan ses i samband med hypertoni. En ischemisk hjärtsjukdom kan leda till hjärtsvikt efter en skada på muskeln, exempelvis hjärtinfarkt, som ger förlust av myokardceller. Även detta förhindrar i sin tur en normal pumpförmåga. Ischemisk hjärtsjukdom och hypertoni står bakom ca 75% av alla hjärtsviktsfall men oavsett orsak medför hjärtsvikt nedsatt livskvalité och hög mortalitet. Exempel på andra bakomliggande orsaker kan vara klaffel på grund av t.ex. aortastenosis, primär hjärtmuskelsvaghet (1), takarytmier, tyroidearubbningar, diabetes samt hög alkoholförbrukning (2). Alkohol finns även bland de faktorer som försämrar en redan etablerad hjärtsvikt tillsammans med andra faktorer som anemi, infektioner, kroniskt obstruktiv lungsjukdom (KOL), lungemboli eller behandling med NSAID-preparat. Olika underliggande tillstånd, som kan leda till hjärtsvikt, kräver olika behandlingsmetoder och därför är det viktigt att kunna ställa en korrekt etiologisk diagnos för att ge rätt behandling mot det tillstånd som kan utlösa eller försämra hjärtsvikt (7, 4).

## Patofysiologi

Hjärtsvikt präglas av en kronisk energibrist i cellerna (7) där patientens minutvolym inte är tillräcklig för kroppens blodförsörjning. Orsaken till att ödem är ett av tillståndets kliniska fynd är att hjärtat inte förmår att pumpa vidare det venösa återflödet. Detta leder till att blodet stockas i venerna, vilket skapar ett högt ventryck så blodplasman läcker ut och bildar vätskeansamlingar, ödem, som följd. Lungödem ses ofta då vänster kammare sviktar medan perifera ödem, i t.ex. anklar och fötter, uppstår vid högerkammersvikt (8).

Hjärtats nedsatta pumpförmåga registreras av olika receptorer i vävnader som startar olika kompensatoriska mekanismer. En sådan mekanism är att öka hjärtfrekvens och kontraktionskraft genom ökad sympatikusaktivitet. En annan kompensatorisk mekanism är aktivering av neurohormonella faktorer via renin-angiotensin II-aldosteron-systemet (RAAS). Då blodtrycket sjunker svarar njurarna genom att spara på vatten och salt. Den låga natriumkoncentrationen i filtratet i macula densa signalerar till de juxtaglomerulära cellerna att frisätta enzymet renin ut till blodbanan. Renin har sedan som uppgift att spjälka angiotensinogen till angiotensin I. Angiotensin I spjälkas i sin tur av ett annat enzym, angiotensinkonverterande enzym (ACE), till den aktiva peptiden angiotensin II. Angiotensin II har en mängd kompensatoriska effekter vid ett för lågt blodtryck via sin receptor, AT1-receptorn (AT1R), som förmedlar blodtryckshöjande effekter. Dels ses en vasokonstriktion av arterioler och vener för att öka blodtrycket och det venösa återflödet och dels ökad aldosteronfrisättning från binjurebarken. Hormonet aldosteron har som uppgift att öka den tubulära reabsorptionen av natrium och vatten från primärurinen, vilket ökar blodvolymen och därmed blodtrycket. En angiotensin II-stimulerad



receptoraktivering resulterar även i hjärthypertrofi, dvs. en förstoring av hjärtat, för att hjärtat ska orka arbeta emot ett högt tryck (7, 8).

Till en början kan kroppens kompensatoriska mekanismer återställa minutvolymen till normala nivåer men ökad sympatikusaktivitet ger ett förhöjt arteriellt blodtryck. Detta kommer i sin tur ställa ökade krav på hjärtats pumpkraft. Då hjärtat växer i storlek minskar kapillärtätheten och kranskärlen får svårare att syreförsörja hjärtat, vilket leder till nedsatt pumpförmåga. Aldosteronfrisättningen ökar preload och Angiotensin II kontraherar även arterioler, vilket ytterligare belastar hjärtat. Således verkar detta negativt på hjärtsviktpatienter (7, 8).

### **Farmakologisk & Icke farmakologisk behandling**

Behandlingsmetoder mot hjärtsvikt syftar till att sänka sympatikusaktiviteten, exempelvis med betablockerare, och/eller dämpa RAAS, exempelvis med ACE-hämmare (ACEI), AT1-antagonister (ARB) och aldosteronantagonister (8).

ACEI och ARB är två läkemedelsgrupper med olika målprotein inom RAAS. ACE-hämmare inhiberar enzymet ACE och förhindrar därmed omvandlingen av angiotensin I till angiotensin II. Målet är att förhindra generationen av angiotensin II och därmed förhindra dess blodtryckshöjande effekter på den totala perifera resistansen. ACEI har varit en viktig hörnsten vid hjärtsviktsbehandling med reducerad ejektionsfraktion och läkemedelsgruppen har även andra indikationer än hjärtsvikt. T.ex. hypertension och kronisk njursjukdom (9, 10).

ACEI har använts sedan år 1981 efter att FDA (United States Food and Drug Administration) godkänt dessa. Den första ACE-hämmaren som utvecklades var ett kortverkande preparat, captopril. Senare kom andra typer med längre verkningsstid som exempelvis lisinopril (11). Enalapril är ett annat exempel inom läkemedelsgruppen. Läkemedlet har visat minskad mortalitet i flera studier (12) och till skillnad från captopril, som är en sulfhydryl-innehållande inhibitor, är enalapril en dikarboxylat-innehållande inhibitor. Detta innebär att enalapril har två karboxylgrupper medan captopril endast har en karboxylgrupp men även en sulfhydrylgrupp. Karboxylgruppen i ACEI är viktig för inbindning till målproteinet, ACE. Den negativt laddade karboxylgruppen interagerar med lysinrester i enzymet via jon-jon- och väte-interaktioner. Enalapril skiljer sig även från både captopril och lisinopril genom att vara en prodrug med enalaprilat som aktiv metabolit (11).

Måldosen för enalapril ligger runt 20–40 mg QD. QD står för *quaque die* och innebär att läkemedlet administreras en gång per dag. Måldosen har visat minska sjukligheten och rekommenderas så länge patienten inte visar intolerans (13, 14).

En biverkan av ACE-hämmare är rethosta. Rethostan utlöses då ACE inhiberas eftersom enzymet bryter ner peptidhormonet bradykinin till dess inaktiva metaboliter. När ACE inhiberas fås även ökade nivåer av bradykinin i lungorna. Bradykinin stimulerar också syntesen av prostaglandiner, vilket innebär att prostaglandinnivån ökar i samband med inhibering av ACE. Det har visat sig att en ökning av både bradykinin och prostaglandin leder till rethostan. Läke­medelsverket rekommenderar att ersätta ACEI med ARB vid intolerans. ARB, exempelvis valsartan, hämmar RAAS genom att istället binda till enzymets receptor, AT1R, som förmedlar de blodtryckshöjande effekterna. Dessa läkemedel är peptidomimetika och liknar därmed den naturliga agonisten, angiotensin II, i strukturen. Struktur-effekt-sambandet (SAR) mellan ARB och AT1R går ut på att en sur grupp, t.ex. karboxylgrupp, fenyltetrazol eller fenylkarboxylat från AT1-antagonister, liknar antingen Tyr<sup>4</sup>fenolen eller Asp<sup>1</sup>karboxylaten i angiotensin II, vilket möjliggör inbindning till AT1R (11). ARB kan även användas vid njursjukdomar, aldosteron-medierad hypertrofi, inflammation och fibros (15).

Andra läkemedelsgrupper som kan användas vid hjärtsviktsbehandling är betablockerare. Betablockerare fungerar genom att förhindra inbindning av adrenalin/noradrenalin till betareceptorer i hjärtat. Detta resulterar i en reducerad hjärtfrekvens och kontraktionskraft. En sådan effekt tycks vara paradoxalt men andra effekter är att även energiförbrukningen reduceras. Tillståndet orsakades av en kronisk energibrist i cellerna, vilket leder till att behandlingen kan hjälpa cellerna att få tillbaka tillräckligt med energi. Detta leder i sin tur till att hjärtat på nytt kan bygga upp de energilagren som tömts ut. På längre sikt ökar därmed både hjärtats kontraktionskraft och kapacitet (7).

De icke farmakologiska behandlingsalternativen består av fysisk träning anpassad för patientens behov samt erbjuda kunskap om tillståndet för både patienten och dess anhöriga. Psykosocialt stöd kan ges vid behov och livsstilsråd (t.ex. minskat alkoholintag, rökstopp m.m.). Hjärtsviktpatienter rekommenderas även vaccin mot influensa och pneumokockvaccin mot lunginflammation eftersom de visar högre känslighet för dessa infektioner (4).

### ***Entresto (sakubitril/valsartan)***

Läkemedelsföretaget Novartis introducerade läkemedlet Entresto, ett nytt läkemedel med flera läkemedelsmål. Entresto består av två aktiva substanser, sakubitril och valsartan, och har indikationen hjärtsvikt med reducerad ejektionsfraktion (16). År 2015 godkände FDA detta läkemedel, till patienter med kronisk hjärtsvikt inom NYHA-klass II-IV tillsammans med en reducerad ejektionsfraktion, som behandling för att reducera risken för kardiovaskulär död och hospitalisering. Detta gör Entresto till den första angiotensin-receptor-neprilysin-inhibitorn som får ett godkännande.

Även den europeiska läkemedelsmyndigheten (EMA) har godkänt försäljning av läkemedlet med samma indikation (17, 18). Tandvårds- och läkemedelsförmånsverket (TLV) bedömer att kostnaden för Entresto är rimlig i förhållande till patientnyttan när den används till den godkända indikationen (19). Dock finns det en stor kostnadsskillnad mellan enalapril och Entresto då kostnaden för Entresto är \$4000–\$5000/år och för enalapril \$50–\$100/år i USA (20, 21).

Utmärkande för Entresto är att läkemedlet ingår i ett 1:1-molekylärt komplex bestående av sakubitril och valsartan. Valsartan är en AT1-antagonist som selektivt blockerar inbindning mellan angiotensin II och AT1R. Sakubitril har en annan blodtryckssänkande funktion genom att hämma ett neutralt endopeptidas, neprilysin (22).

Neprilysin är ett enzym som finns i centrala nervsystemet, lungor, tarmar, endotelceller, neutrofiler och fibroblaster. Enzymet är således distribuerat i kroppen och bekant under många namn som exempelvis metalloendopeptidas, antigenet CD10, neutralt endopeptidas, enkefalin, atriopetidas m.m. Detta membranbundna endopeptidas har även som funktion att bryta ner natriuretiska peptider (NPs), bradykinin, substans P och många andra vasoaktiva peptider (23).

En aktivering av RAAS resulterar i vasokonstriktion och en salt- och vattenretention via angiotensin II och aldosteron. Sympatikusaktivering resulterar istället i ökad hjärtfrekvens, kontraktilitet och vasokonstriktion. Båda dessa mekanismer är viktiga för utvecklingen av hjärtsvikt och kan även resultera i hjärthypertrofi, fibros och dysfunktion i endotelet. En hormonfamilj, NPs, har som uppgift att bland annat reglera homeostasen av vatten- och saltbalansen. Dessa fungerar som en kompensatorisk mekanism för vätskeöverskottet hos hjärtsviktpatienter och det finns olika typer av NPs. Atriell natriuretisk peptid (ANP), B-typ natriuretisk peptid (BNP) och C-type natriuretisk peptid (CNP) har liknande struktur och natriuretisk, diuretisk och vasorelaxerande funktion. Syntes och utsöndring av ANP och BNP från hjärtmuskulaturen kan åstadkommas via en adaptiv endogen mekanism när hjärtat utsätts för stress där hjärtväggen dilaterar eller utsätts för ökad belastning (24). Detta är en anledning till varför NPs är användbara biomarkörer vid hjärtsviktsdiagnostik. NPs har även visat goda anti-fibrotiska effekter som kan leda till förbättringar av hjärtfunktionen och strukturen (25, 26).

Neprilysin har även egenskapen att hydrolysera och inaktivera angiotensin II (25), vilket innebär att monoterapi med neprilysin-inhibitorer orsakar en ackumulering av angiotensin II. En förutsättning för att uppnå de kliniska fördelarna med neprilysin-inhibitorer blir därmed att använda kombinationsterapi där sådana läkemedel används i kombination med läkemedel som inaktiverar RAAS. Till exempel ARB eller ACEI. Sådana observationer har varit bakgrunden till utvecklingen av läkemedel som omapatrilat. Omapatrilat har egenskapen att hämma både neprilysin och enzymet ACE men under en fas III-studie visades hjärtsviktpatienter få högre risk för angioödem som läkemedelsbiverkan (23). Orsaken till detta är att omapatrilat inhiberar aminopeptidas P, vilket kataboliserar bradykinin. Därmed fås större

effekter av bradykinin och större risk för angioödem som följd. Denna oacceptabla biverkan förhindrar vidare utveckling av omapatrilat. I Entresto har ACEI ersatts av en ARB, valsartan, som har mindre effekt på bradykininnivåerna (27). Den aktiva metaboliten av sakubitril, sakubitrilat (LBQ657), inhiberar inte aminopeptidas P, vilket ytterligare är en förutsättning då risken för angioödem är lägre (28). Måldosen för Entresto är 97mg/103mg BID (400mg oralt). BID står för *bis in die* och innebär att läkemedlet administreras två gånger per dag (13).

Det föreligger en genetisk skillnad i anatomin och fysiologin av det kardiovaskulära systemet mellan män och kvinnor. Detta, som en följd av kroppscomposition, hormonsystemet, graviditet m.m, orsakar även skillnader i riskfaktorer, prevalens, symptom och utfall. Trots det är kardiovaskulära sjukdomar den vanligaste orsaken bakom morbiditet och mortalitet hos båda könen (29).

Läkemedelsbehandling med Entresto visar dock liknande farmakokinetiska parametrar ( $AUC_{inf}$ ,  $C_{max}$ , och  $t_{1/2}$ ) hos båda könen och därför behövs ingen dosjustering (30).

### ***Karboxylesteras***

Enalapril utövar sin terapeutiska effekt i form av sin aktiva metabolit enalaprilat. Denna omvandling från enalapril till enalaprilat sker i levern där enalapril hydrolyseras av karboxylesteras 1 (CES1) till enalaprilat (31). Karboxylesteraser tillhör en enzymfamilj som ansvarar för hydrolys av främst estergrupper men även amider hos både endo- och exogena substrat (32). Eftersom CES1 bryter ned esterinhållande xenobiotika kan en interaktion med enalapril ske då läkemedlet är en prodrug innehållande en estergrupp (10, 33). Sakubitril hydrolyseras *in vivo* till den aktiva metaboliten sakubitrilat (LBQ657) i levern via en enzymatisk klyvning av en etylestergrupp. Även detta sker med hjälp av CES1 och sakubitril är således en prodrug likt enalapril (34). LBQ657 inhiberar sedan neprilysin medan en blockad av AT1R åstadkoms av valsartan (35).

Det finns många olika typer av CES-enzym, varav CES1 är den dominerande subgruppen och finns i levern. I levern har detta enzym många läkemedel som substrat, exempelvis oseltamivir, enalapril, klopidogrel och sakubitril (11). Karboxylesteras 2 (CES2) uttrycks i höga nivåer i njurarna och tarmen och mindre i levern (36). I tarmen och njurarna finns inga CES1-enzym (20).

Det förekommer att olika individer har olika CES1-aktivitet och uttryck. Studier har visat att den individuella variabiliteten av CES1 har en stark koppling till genetisk polymorfism, dvs. att en individs gensammansättning kan bestämma aktivitet och uttryck hos CES1 vid substratmetabolism (37). I en funktionell CES1-gen hittas

generna för CES1A1 (1A1) och CES1A2 (1A2). Studier har visat att det kan förekomma olika mutationer där 1A2 ersätts av en pseudogen, CES1A3 (1A3). Dessa liknar varandra i exon 1 men exon 1 i 1A3 innehåller även ett stoppkodon, vilket påverkar genuttrycket och därmed aktiviteten av enzymet. I en studie där japanska cancerpatienter hade mutationer, som förändrat antalet funktionella CES1A-gener, påverkades syntesen av aktiva metaboliter av läkemedlet irinotecan (38) där metabolismen av läkemedlet ökade i samband med genetiska variationer av CES1 (10).

CES1A1c är en annan isoform av CES1 med ett reducerat uttryck av mRNA för CES1 i levern, vilket har setts hos 17–27% av populationen i USA och Asien (39, 10). Frekvensen av anlagsbärare med en annan genvariant av CES1, G143E, varierar mellan 2–4% i olika populationer men i Asien är genvarianten väldigt ovanlig (20).

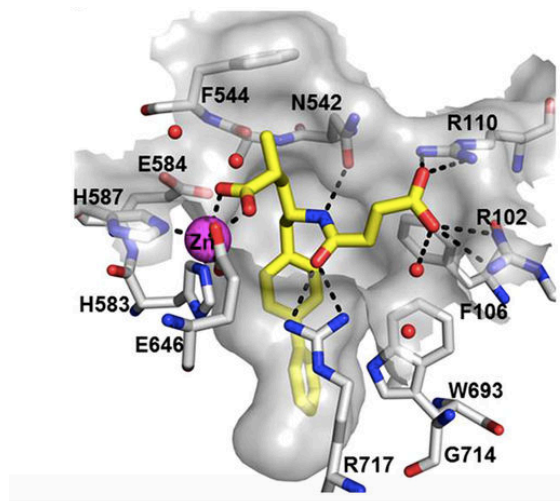
Genen som kodar för CES1 hittas på kromosom 16q13-q22 hos människa. Vildtyp CES1, dvs. den ursprungliga allelen, kan, som tidigare nämnt, genomgå många mutationer (11). CES1-genen visar en hög polymorficitet med mer än 500–2000 icke-synonyma enbaspolymorfier (nsSNP), dvs. förändringar i arvsmassan där aminosyror byts ut mot varandra (20, 40). NsSNP är även människans vanligaste genmutation. Det har visat sig att frekvensen av en CES1 nsSNP varierar mellan olika etniska grupper där kaukasier visar en mindre andel av nsSNP av CES1 (ca 4%). Hos andra populationer förekommer det olika genvarianter som t.ex. T167S hos ca 5% i Afrika och A158V hos ca 7% i södra Asien (41).

G143E, en variant av CES1 nsSNP, är resultatet av ett utbyte mellan baserna G och A i exon 4, vilket ger gensammansättningen GGG→GAG. Detta innebär även ett utbyte mellan aminosyrorna glycin och glutaminsyra i position 143 av den kodande regionen (42). Detta skapar en icke-fungerande allel som i sin tur kan riskera att förändra metabolismen av olika substrat till CES1 (10). Senare studier har bekräftat att en G143E-mutation hämmar den katalytiska funktionen av CES1. Som en följd av detta hämmas även den hydrolytiska interaktionen med några av dess substrat, exempelvis metylfenidat (43). Dosen behöver därför justeras till lägre nivåer för detta läkemedel (20).

De individer som har en CES1-polymorfism får således sämre fungerande CES1 fenotyp, vilket även drabbar metabolismen av många läkemedelssubstrat. Högre risk för läkemedelsbiverkningar kan också förekomma och det rekommenderas att vidare studier görs på detta för att inte glömma bort kliniskt relevanta läkemedelsinteraktioner (31).

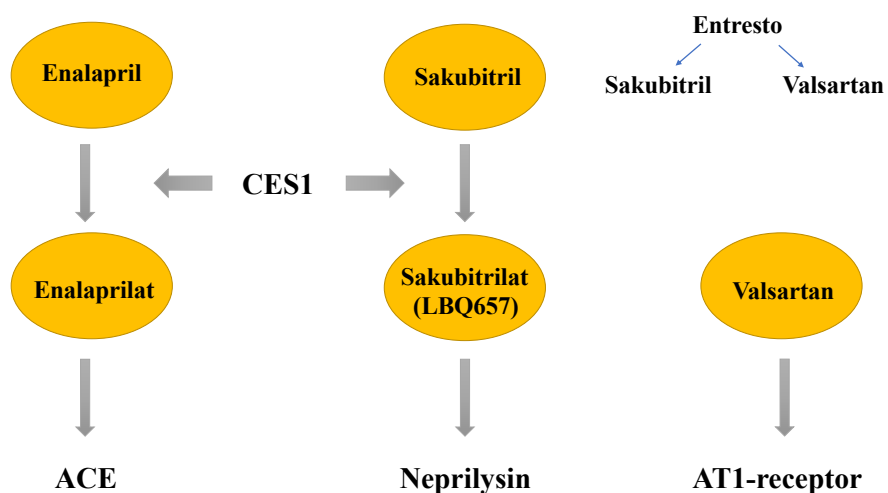
När sakubitril metaboliseras till den aktiva metaboliten LBQ657 av CES1 så kan neprilysin hämmas. Kunskap om strukturen av LBQ657 och neprilysin är viktig för att kunna förstå hur Entresto kan leda till terapeutisk effekt. Denna kunskap kallas för struktur-effektsamband (SAR). Bifenylstrukturen i position P1' i LBQ657 binder till S1' i neprilysin som även är ett zinkmetalloprotein (därför att enzymet har en metalljon som cofaktor (zink)). Detta leder till en konformationsändring och skapar

hydrofoba interaktioner, metallkoordination till neprilysins zinkjon, jon-jon-, jon-dipol- samt vätebindningar (se figur 1). LBQ657 och dess kirala centra är essentiella för att skapa en optimal bindning till neprilysin och även därför är det viktigt med en korrekt fungerande CES1-gen (44).



**Figur 1.** Figuren visar LBQ657-Neprilysin-komplex där LBQ657 (gul) interagerar med neprilysin, vars aktiva site visas i grått. Interaktionen sker genom hydrofoba bindningar (LBQ657-Phe544), vätebindningar/jon-dipolbindningar (svarta streckade linjer, LBQ657-Asn542, Arg717), metallkoordination till neprilysins zinkjon (rosa) samt jon-jonbindningar (LBQ657(COO<sup>-</sup>)-Arg102,Arg110).

CC BY [Some rights reserved](#) at Schiering N, D'Arcy A, Villard F, Ramage P, Logel C, Cumin F, et al. Structure of neprilysin in complex with the active metabolite of sacubitril. Scientific Reports. 2016;6:27909. Figur 2, Active site view of NEP in complex with LBQ657; s. 2



**Figur 2.** Figuren visar en schematisk bild på enalapril, sakubitril och valsartan samt deras aktiva metaboliter och läkemedelsmål. Figuren visar även att Entresto består av sakubitril och valsartan.

## ***Konsekvenser hos patienter med vildtyp CES1***

### **Alzheimer's sjukdom**

LBQ657 ger blodtryckssänkande effekter genom inhibering av enzymet neprilysin men enzymet bryter även ner amyloid- $\beta$  peptider ( $A\beta$ ). Neprilysin spelar en central roll i homeostasen av  $A\beta$  i hjärnan (45, 46) och  $A\beta$  spelar en roll i patofysiologin för Alzheimer's sjukdom (AD). I hjärnan återfinns neprilysin huvudsakligen i neuronala celler men även i hippocampus, där det inaktiverar somatostatin (47).

Ca 60% av alla patienter med demenssjukdom har AD och denna utgör även den vanligaste formen av neurodegenerativa sjukdomar. Orsakerna bakom AD är inte helt identifierad men sjukdomen kopplas även till hög ålder och ärftlighet som är starka riskfaktorer (48, 49). Sjukdomen associeras med en ackumulering av senila plack och neurofibrillära trassel i hjärnan skapade av ett hyperfosforylerande protein (tau) (50). De senila placken består av olika isoformer av  $A\beta$  som är mer benägna för aggregation ( $A\beta$  1-40,  $A\beta$  1-42) och som syntetiseras till följd av enzymatisk klyvning med enzymerna  $\beta$ - and  $\gamma$ -sekretas. Därav finns det även en potentiell risk för utveckling av AD vid behandling med Entresto. Dock är den patofysiologiska rollen av  $A\beta$  hos AD inte helt förstådd (35).

Andra studier visar att en tredje isoform,  $A\beta$  1-38, har setts ackumuleras i hjärnan endast hos endast patienter med en ärftlighet för AD på grund av mutationer i genen för amyloid prekursor-proteinet. Detta protein klyvs av sekretaser. Även om behandling med Entresto teoretiskt sett resulterar i en ackumulering av  $A\beta$  1-38 visar studier att detta sker oberoende hämning av neprilysin (35).

Det är inte endast patienter med vildtyp neprilysin som, teoretiskt sett, har en större risk att drabbas av AD. Studier har visat att det även kan förekomma en polymorfism i genen som kodar för neprilysin och som därmed kan öka risken för att utveckla AD (51).

### **Rabdomyolys**

Rabdomyolys definieras som sönderfall av skelettmuskelceller på grund av sepsis, ischemi, kramper eller av läkemedelstoxicitet (52). Det finns även en infektionsutlöst form av rabdomyolys som kan uppstå i samband med bakteriella infektioner i muskeln. Även virala infektioner kan öka incidensen av rabdomyolys exempelvis HIV, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, herpes simplex virus m.m. (53)

Tillståndet kan leda till förhöjda nivåer av kreatinfosfatkinaser (CPK) men även laktatdehydrogenas, aminotransferaser samt annat intracellulärt innehåll ut i cirkulationen. Olika aminotransferaser är t.ex. aspartat transaminas, AST, och alanin transaminas, ALT (54). Detta kan i sin tur ge skador på njurar, orsaka hjärtarytmier, hypertermi och till och med död. Det är nivåer av främst AST (55) som ökar i samband med nedbrytningen av skelettmuskulatur samt att CPK också ökar. Ett CPK-värde  $\geq 1,000$  U/mL anses vara en biomarkör vid rabdomyolys. När rabdomyolys utvecklas i samband med en allvarligare form av muskelskada så frisätts och ackumuleras CPK i blodcirkulationen. Dessa proteiner kan även hamna i njurtubuli och andra organ, vilka i sin tur riskerar att orsaka njursvikt och/eller multiorgansvikt (56).

Vanliga kliniska fynd vid rabdomyolys är muskelsmärta och svaghet samt brun-mörkrödfärgat urin. Även här är ärftlighet en bakomliggande orsak men rabdomyolys kan också vara en läkemedelsbiverkan. Exempelvis när statiner används för att behandla höga blodfetter genom att bland annat inhibera 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reduktas (57). Komplikationen rabdomyolys är dock beroende av dosen och läkemedelsinteraktioner som kan orsaka högre plasmakoncentration av statiner i blodcirkulationen. Det finns även undergrupper av patienter med större risk för rabdomyolys i samband med statinbehandling. Det är patienter i 70 års-åldern som samtidigt har nedsatt njur- och leverfunktion (58).

Då hjärtsvikt medför en hög prevalens och kostnad ökar efterfrågan på tilläggsterapier. Ett exempel på sådan behandling är statiner indikerade för primär- och sekundär prevention av aterosklerotiska kardiovaskulära händelser. Statiner har visat reducerad insjuknande i hjärtinfarkt och kan således vara en möjlig behandling för hjärtsvikt då dessa ofta uppstår som följd. Det är dock inte helt godkänt att behandla med statiner vid en redan etablerad hjärtsvikt (57).

Entresto har tidigare inte associerats med rabdomyolys och används ofta hos patienter som samtidigt behandlas med statiner (57). Tidigare studier visar att kombinationsterapi med sakubitril/valsartan och atorvastatin leder till en tvåfaldig ökning av  $C_{max}$  hos atorvastatin samt dess metaboliter. Andra studier visar in vitro att sakubitril har en förmåga att inhibera OATP1B1 (1B1) och OATP1B3 (1B3) som tillhör gruppen organic anion transporting polypeptides (OATP). Då dessa ansvarar för clearance av atorvastatin ökar därmed risken för ökad  $C_{max}$  och AUC hos atorvastatin (59). Andra orsaker till förändrad farmakokinetik och -dynamik hos statiner är polymorfism i form av SNP hos generna SLCO1B1 och SLCO1B3, vilka kodar för 1B1 and 1B3 (58).

Vissa statiner är även substrat till kroppsegna ämnen som exempelvis P-glykoprotein. Inhiberas dessa av läkemedel (ex carvedilol) så ökar serumkoncentrationen av statiner, vilket i sin tur ökar statin-inducerade biverkningar. Studier visar att även en sådan kombinationsbehandling riskerar en tvåfaldig ökning av  $C_{max}$  för atorvastatin och dess metaboliter (58, 60).



## **SYFTE**

Syftet med arbetet är att undersöka om Entresto kan ersätta ACE-hämmare vid hjärtsvikt och om den behandlingen är optimal med avseende på farmakogenetiken.

## **MATERIAL OCH METODER**

För att kunna besvara syftet med detta arbete är arbetet utformat som en litteraturstudie. Söktermer som "Entresto", "Heart Failure", "Sacubitril", "Rhabdomyolysis" samt "Amyloid- $\beta$ " har använts i databasen PubMed (2017-12-20 till 2017-12-25) för att komma åt vetenskapliga artiklar. Sökningen gjordes även via Linnéuniversitetets sökverktyg OneSearch för att få tillgång till ett större urval av artiklar. Eftersom Entresto är ett relativt nytt läkemedel så har inga artiklar äldre än 5 år analyserats (9).

Studie I valdes för att undersöka överlägsenheten av Entresto gentemot en ACEI (9). Medan studie II och III undersöker läkemedelseffekten av ACEI och Entresto i samband med genvariabiliteten hos CES1 (10, 20). Studie IV och V undersöker vilka konsekvenser behandling med Entresto leder till för dem som har vildtyp CES1 (35, 58).

## **RESULTAT**

### ***STUDIE I: Angiotensin–Neprilysin Inhibition versus Enalapril in Heart Failure (9)***

#### **Syfte & metod studie I**

Syftet med studie I var att jämföra effekten av Entresto med enalapril hos hjärtsviktpatienter med reducerad ejektionsfraktion. Målet var att uppnå tillräckligt med övertygande evidens för att ersätta standardterapi ACEI (enalapril), med Entresto. Studien är sponsrad av det läkemedelsföretag som introducerade Entresto, Novartis. Den primära utfallsvariabeln var förekomst av kardiovaskulär död men även sjukhusinläggning vid försämring av den kroniska hjärtsvikten. Studien var

randomiserad, dubbelblind, och bestod av tre faser där adekvata doser av enalapril och Entresto användes. En screeningfas och två single-blind run-in-faser där alla patienter behandlades med enalapril (10 mg BID under 2 v.) och sedan Entresto (100 mg BID som sedan ökades till 200 mg BID under 4–6 v, vilket motsvarar 97mg/103mg BID). Detta för att förhindra uppkomsten av oacceptabla biverkningar som angioödem. Studien skulle pågå i tre år men avslutades redan efter 27 månader.

Det var 8442 patienter med hjärtsvikt i NYHA-klass II-IV med EF= > 40% som randomiserades. Av dessa behandlades 4187 patienter med Entresto och 4212 med enalapril. Patienterna rekryterades från 47 olika länder. I studien var andelen kvinnor låg (21%) (se tabell 1). Patienterna hade ett BMI runt 28, vilket innebär att de hade en övervikt och 35% av dem hade diabetes. Deras EF (vänsterkammare) låg runt 30%, vilket innebär hjärtsvikt med nedsatt systolisk funktion och därmed en dålig hjärtfunktion. Den dåliga pumpfraktionen kan delvis förklaras med att 43% tidigare haft hjärtinfarkt (se tabell 1).

**Tabell 1.** Tabellen visar olika parametrar uppmätta vid försökets start (9).

Ejektionsfraktion, vänster kammare (EF)	30%
Tidigare hjärtinfarkt	43%
Diabetes	35%
BMI	28 kg/m <sup>2</sup>
Kvinnor	21%

För att kunna delta i studien krävdes en åldersgräns på 18 år, hjärtsvikt med NYHA-klass II-IV och en reducerad EF på 40%, vilket senare ändrades till 35%. Ett annat inklusionskriterium var att patienternas plasmakoncentration av BNP skulle ligga vid minst 150pg/ml. Patienterna skulle även behandlats med beta-blockerare, ACEI eller ARB ekvivalent till dosen enalapril som var 10mg/dygn under 4 veckor innan screeningfasen. Patienter som tidigare drabbats av angioödem eller andra oacceptabla biverkningar under behandling med ACEI eller ARB exkluderades från studien.

## Resultat studie I

Den primära utfallsvariabeln inträffade hos 21,8% av patienterna (914 patienter) som tillhörde gruppen som fick Entresto och 26,5% (1117 patienter) från gruppen som fick enalapril (se tabell 2). NNT (number needed to treat) används för att beräkna hur många patienter som behöver behandlas med ett visst läkemedel under en viss tid för att en patient ska få terapeutisk effekt av läkemedlet. NNT för den här studien beräknas till 21 då  $26,5 - 21,8 = 4,7$  procentenheter, vilket även är den absoluta riskreduktionen (ARR) och  $1/0,047 \approx 21$  enligt formeln för NNT ( $1/ARR$ ) (61).

Det var 3,2% lägre risk för dödsfall på grund av kardiovaskulära orsaker i gruppen som fick Entresto (13,3%) jämfört med dem som fick enalapril (16,5%). Andelen sjukhusinläggningar var lägre med Entresto (12,8%) jämfört med enalapril (15,6%) (se tabell 3). Resultatet visar även att 17% (711 patienter) i gruppen som fick Entresto och 19,8% (835 patienter) i gruppen som fick enalapril dog (se tabell 4). Däremot var antalet fall av angioödem större i gruppen som fick Entresto. Av de deltagare som drog sig ur studien var de flesta (ca 12%) från ACEI-gruppen och de drog sig ur på grund av biverkningar. Biverkningar som rapporterades var hosta, hyperkalemi, försämrad njurfunktion eller hypotoni. Studien avbröts i förtid eftersom behandling med Entresto var överlägset avseende behandlingseffekt jämfört med enalapril.

**Tabell 2.** Tabellen visar primära utfallsvariabler efter behandling med Entresto eller enalapril (9).

Behandling	Primär utfallsvariabel dvs. förekomst av dödsfall eller tid till sjukhusinläggning (%)
Entresto (200 mg BID ER)	21,8 (914)
Enalapril (10 mg BID ER)	26,5 (1117)

Siffrorna innanför parenteserna anger antalet patienter.

ER står för "Efter randomisering".

BID står för bis in die och innebär att läkemedlet administrerats två gånger per dag.

**Tabell 3.** Tabellen visar primära utfallsvariabler (uppdelade i död på grund av kardiovaskulär orsak och sjukhusinläggning på grund av försämrad hjärtsvikt) efter behandling med Entresto eller enalapril (9).

Behandling	Primär utfallsvariabel (Död på grund av kardiovaskulär orsak) (%)	Primär utfallsvariabel (sjukhusinläggning på grund av försämrad hjärtsvikt) (%)
Entresto (200 mg BID ER)	13,3 (558)	12,8 (537)
Enalapril (10 mg BID ER)	16,5 (693)	15,6 (658)

Siffrorna innanför parenteserna anger antalet patienter.

ER står för "Efter randomisering".

BID står för bis in die och innebär att läkemedlet administrerats två gånger per dag.

**Tabell 4.** Tabellen visar sekundära utfallsvariabler i andel dödsfall (9).

Behandling	Sekundär utfallsvariabel (Dödsfall oavsett orsak)
Entresto (200 mg BID ER)	17% (711)
Enalapril (10 mg BID ER)	19,8% (835)

Siffrorna innanför parenteserna anger antalet patienter.

ER står för "Efter randomisering".

BID står för bis in die och innebär att läkemedlet administrerats två gånger per dag.

## ***STUDIE II: The Pharmacokinetics of Enalapril in Relation to CES1 Genotype in Healthy Danish Volunteers (10)***

### **Syfte & metod studie II**

Syftet med studien var att undersöka hur farmakokinetiken hos enalapril påverkas av olika genvarianter som t.ex. G143E. I studien mättes olika farmakokinetiska parametrar som utfallsvariabler. Dessa var arean under plasmakoncentrationskurvan ( $AUC_{0-\infty}$ ) som är ett mått på läkemedelsexponeringen över tid, maximal plasmakoncentration ( $C_{max}$ ) som är den högsta läkemedelskoncentrationen som uppnås i plasma och tiden för att nå  $C_{max}$ , ( $t_{max}$ ) samt halveringstiden ( $t_{1/2}$ ) som anger hur lång tid det tar för plasmakoncentrationen av ett läkemedel att minska till hälften. (61). För att få fram dessa surrogatvariabler mättes plasmakoncentrationen för både enalapril och dess aktiva metabolit, enalaprilat, vid olika tidpunkter (0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 24, 48 och 72h efter administrering). Studiepopulation bestod av 43 friska frivilliga danska kaukasier (19 män och 24 kvinnor) med olika genotyper. De fick 10 mg enalapril oralt QD 1 h efter frukost och efter att de hade fastat under natten. Eftersom måldosen är 20 mg så användes inga adekvata doser i studien (14). De delades in i sex olika grupper där varje grupp hade en viss genvariant av CES1. Grupp 1 (kontrollgruppen) med 16 deltagare ( $n = 16$ ) som hade två kopior av CES1 utan nsSNP i exonen, grupp 2 ( $n = 5$ ) som hade fyra kopior, grupp 3 ( $n = 6$ ) med G143E polymorfismen, grupp 4 ( $n = 2$ ) med tre kopior av CES1 + med ökad transkriptionsaktivitet (på grund av CES1A2), grupp 5 ( $n = 4$ ) med CES1A1c-

genvarianten och slutligen grupp 6 (n = 10) med tre kopior av CES1 samt en lägre (normal) transkriptionsaktivitet.

Inklusionskriterierna var att deltagarna skulle vara friska män och kvinnor med kaukasiskt ursprung och vara minst 18 år gamla. Exklusionskriterierna var graviditet, intolerans mot enalapril, annan kronisk läkemedelsbehandling förutom preventivmedel, öron- och ögondroppar m.m. Deltagarna exkluderades även om de hade kroniska hjärt-, lever- och njursjukdomar samt hyper/hypotoni, diabetes, rökning och hög alkoholkonsumtion.

## **Resultat studie II**

Resultatet visade ingen skillnad, som var tillräckligt stor, mellan de olika parametrarna hos de olika grupperna. Hos enalaprilat var det störst skillnad i  $t_{1/2}$  där grupp 6 hade en längre  $t_{1/2}$  (26,7 h) jämfört med grupp 1 (kontrollgruppen) som hade halveringstiden 12,4 h. Dock anses inte denna skillnad vara kliniskt signifikant eftersom antalet deltagare i gruppen var för få. Det förekom inte heller bortfall under studiens gång och det fanns ingen skillnad i biverkningsförekomsten bland deltagarna.

Antalet deltagare var inte tillräckligt för att säkerställa ett statistiskt samband (power). Detta riskerar att det begås TYP II-fel där nollhypotesen, att det inte finns en skillnad, accepteras även om den skulle vara falsk (62).

## ***STUDIE III: Sacubitril is Selectively Activated by Carboxylesterase 1 (CES1) in the Liver and the Activation is Affected by CES1 Genetic Variation (20)***

### **Syfte & metod studie III**

Syftet med studien var att identifiera vilket eller vilka enzymer som ansvarar för aktiveringen av sakubitril, var i kroppen aktivering sker samt att bestämma vilken inverkan den genetiska variabiliteten av CES1 har på aktiveringen.

Studien var en inkubationsstudie med eppendorfrör. I var och en av dessa eppendorfrör inkuberades 20 µl sakubitril in vitro. Ett av dessa eppendorfrör innehöll, tillsammans med sakubitril, human plasma och resterande eppendorfrör innehöll varsin S9-fraktion, som är en blandning av flera metaboliserande enzymer

(63), från olika organ inkuberad med sakubitril. I ett av dessa eppendorfrör fanns S9-fraktionen från human lever (HLS9), i ett annat eppendorfrör fanns S9-fraktionen från human tarm (HIS9) samt ytterligare ett eppendorfrör med S9-fraktionen från human njure (HKS9).

Dessa organ blir aktuella då CES1 främst finns i levern och CES2 i njurarna och tarmen (36). I alla eppendorfrör tillsattes även rekombinant humant CES1 och CES2. Detta för att undersöka den hydrolytiska reaktionen och därmed aktiveringen av sakubitril. Blandningarna med S9-fraktionerna och sakubitril centrifugerades i 17,000g under 10 min för att få bort proteinrester och supernatanten kvarstod sedan som koncentrationen av den aktiva metaboliten av sakubitril, LBQ657. För att utvärdera och få fram kontrollmätningar av den enzymatiska aktiviteten hos CES1 och CES2 lades fluoresceindiacetat, selektivt substrat för CES2, och enalapril, selektivt substrat för CES1, i inkuberingen hos alla eppendorfrör.

Ytterligare en undersökning gjordes in vitro men i det här fallet med cellinjer med genvarianten G143E och vildtyp CES1. Genvarianten G143E ska föreställa en sämre fungerande variant av CES1 där den aktiverande funktionen fallit bort och för att hitta denna genvariant så identifierades genomet från totalt 53 humana leverprover. I dessa 53 leverprover hade fem personer genvarianten G143E medan övriga hade vildtyp CES1. I de fem leverproverna undersöktes sedan den hydrolytiska aktiviteten av G143E. Från de övriga 53 leverproverna med vildtyp CES1 valdes 48 leverprover slumpmässigt ut och det var dessa, tillsammans med de fem leverproverna med G143E, som sedan undersöktes vidare avseende den hydrolytiska aktiviteten vid omvandling av sakubitril till dess aktiva metabolit.

### **Resultat studie III**

Resultatet av inkubationsstudien visade att sakubitril hydrolyserades snabbt av HLS9 till sin aktiva metabolit LBQ657 och av den rekombinanta CES1 men kunde inte aktiveras av andra S9-fraktioner (tarm och njure) eller rekombinant CES2. Enalapril hydrolyserades till enalaprilat i HLS9 men i plasma, HIS9 och HKS9 kunde substansen inte hydrolyseras lika mycket. Fluoresceindiacetat hydrolyserades däremot till sin aktiva metabolit, fluorescein, i HLS9 och visades därför inte vara särskilt selektiv för CES2 eftersom substansen även kunde omvandlas i levern där CES2 uttrycks mindre. CES2 uttrycks mer i tarm och njurar där det finns mindre uttryck av CES1 och där enalapril och sakubitril inte kunde hydrolyseras. Detta innebär att fluoresceindiacetat inte visade selektivitet för CES2 och att enalapril och sakubitril inte kunde hydrolyseras lika bra av CES2 som av CES1.

Resultatet i den andra inkubationsstudien visade att de leverprov, som bar på genen G143E, inte kunde hydrolysera sakubitril tillräckligt bra ( $p > 0,05$ ). Däremot så kunde sakubitril hydrolyseras av de leverprov som var av vildtyp CES1.

## ***STUDIE IV: The effect of LCZ696 (sacubitril/valsartan) on amyloid- $\beta$ concentrations in cerebrospinal fluid in healthy subjects (35)***

### **Syfte & metod studie IV**

Syftet med studien var att bedöma permeabiliteten av LBQ657 över blod-hjärnbarriären. Syftet var även att bedöma hur olika doser av Entresto påverkade bildning av isoformer av A $\beta$  i cerebrospinalvätskan (CSF) hos friska individer.

Studien var dubbelblind, randomiserad, parallell och placebokontrollerad där läkemedlet, Entresto, prövades mot placebo. Deltagarna bestod av friska män och kvinnor i åldrarna 18-55 år. Deltagarna randomiserades 1:1 där den ena gruppen fick Entresto i dosen 400 mg QD och den andra placebo QD under 14 dagar. Deltagarna vägde > 50kg och ett BMI mellan 18-30 kg/m<sup>2</sup>. Deltagare som tidigare tagit andra läkemedel eller tidigare haft angioödem exkluderades från studien. Studien genomfördes i enlighet med GCP (Good Clinical Practice) (64) och helsingforsdeklarationen.

I studien fanns en farmakodynamisk fas där koncentrationen av amyloid- $\beta$  1–42, 1–40 och 1–38 i CSF och plasmakoncentrationen av amyloid- $\beta$  1–40 mättes. Studiens primära fokus lades på A $\beta$  1-40 AUC(0.36h) där koncentrationen i CSF undersöktes både före och efter behandling med Entresto eller placebo. För att kunna genomföra detta togs prover av CSF dag -2, -1, 14 och 15 vid tiderna 0.5h före intag och 1, 2, 4, 8, 12, 24 och 36h efter intag av Entresto eller placebo. Mätningarna dag -2 och -1 motsvarar den farmakodynamiska baseline för A $\beta$  1-40 AUC. Därefter beräknas AUC från 0-36h före behandling (baseline) och efter behandling (dag 14-15) och ger ett samlat värde från varje individ på hur resultatet förändrats över 36 h. Detta för att kunna ta reda på den primära utfallsvariabeln som är skillnaden i AUC  $AUC_{Efter\ behandling} - AUC_{Före\ behandling}$  där  $AUC_{Efter\ behandling}$  är AUC baserat på mätningarna dag 14-15 och  $AUC_{Före\ behandling}$  är baseline, dvs. mätningarna dag -2 och -1 för både Entresto och placebo.

### **Resultat studie IV**

Det var ingen skillnad mellan hur Entresto påverkade mängden bildat A $\beta$  1-40 och 1-42 i CSF jämfört med placebo vid tidpunkten 14 dagar ( $p > 0,05$ ). Däremot steg A $\beta$  1–38 med 42% efter 8h. Denna ökning sågs dock endast mellan 0-8 h ( $p = 0,023$ ) men efter 38h fanns ingen skillnad mellan behandling med Entresto och placebo ( $p =$

0,058) och var likt resultatet avseende A $\beta$  1-40 och 1-42. Entresto förändrade inte heller mängden bildat A $\beta$  1-38 i CSF jämfört med placebo vid tidpunkten 14 dagar.

Den aktiva metaboliten av sakubitril, LBQ657, passerar över blod-hjärn-barriären och når den maximala plasmakoncentrationen ( $C_{max}$ ) 19,2 ng/mL i CSF efter 14 dagar med 400 mg Entresto.

### ***STUDIE V: Rhabdomyolysis After Coadministration of Atorvastatin and Sacubitril/Valsartan (Entresto™) in a 63-Year-Old Woman (58)***

#### **Syfte & metod studie V**

Syftet med denna fallstudie var att bedöma och undersöka uppkomst av rhabdomyolys som biverkan efter läkemedelsbehandling med Entresto. Artikeln är en fallrapport och handlar om en 63-årig sydamerikansk kvinna och hennes utveckling av rhabdomyolys. Kvinnan behandlas för en rad olika sjukdomar och tillstånd (hypertension, hyperlipidemi, hjärtsvikt, förmaksflimmer samt perifer kärlsjukdom). Under mer än 1 år har hon behandlats med läkemedel som carvedilol 25 mg BID, digoxin 0.125 mg QD, furosemid 40 mg QD, spironolakton 25 mg QD, rivaroxaban 15 mg QD samt enalapril 20 mg BID utan oacceptabla biverkningar. Behandling med enalapril ersattes med ett annat läkemedel mot hjärtsvikt, Entresto, 24/26 mg BID. Patienten behandlades även med statinpreparatet atorvastatin 40 mg QD och hade sedan 7 år tillbaka stått på behandling med olika statinpreparat (atorvastatin, simvastatin och rosuvastatin) utan några oacceptabla biverkningar. För övrigt var patienten fri från hepatit A, B, Epstein-Barr virus, humant Immunbrist-Virus/human immunodeficiency virus (HIV), Herpes simplex virus (HSV) samt cytomegalovirus (CMV). Mängden bilirubin (i mg/dL), transaminaser (i u/L), AST och ALT mättes efter intag av Entresto.

#### **Resultat studie V**

Efter 26 dagar med Entresto i dosen 24/26 mg BID utvecklade patienten rhabdomyolys. Undersökningarna visade förhöjda nivåer av både AST (351 u/L), ALT (131 u/L) och CPK (58,349 u/L) (Normala nivåer för AST/ALT ligger runt 25–50 u/L (66)). Dessa nivåer befanns normala före behandling med Entresto och efter behandling upptäcktes även färgförändringar i urin och ökad muskelsmärta.



Under tiden patienten behandlades på sjukhus sattes Entresto ut och hennes symtom började försvinna inom 5 dagar. CPK-halten började sjunka under denna tid och halten bilirubin ökade till normala nivåer igen. Även nivåer av AST/ALT stabiliserades under sjukhusperioden. Efter ca en vecka återgick patienten till en annan statinbehandling (rosuvastatin i 5mg) och nivåerna av CPK och AST/ALT var fortsatt stabila.

## DISKUSSION

Hjärtsvikt är ett tillstånd som resulterar i minskad livskvalité, hög morbiditet och mortalitet och därför har det gjorts många försök för att hitta terapeutiskt lämpliga läkemedelsmål för att kunna minimera dessa konsekvenser (4, 9). Neurohormonella kompensatoriska mekanismer, exempelvis RAAS, syftar till att återställa blodtrycket till normala nivåer igen men på längre sikt ökar det belastningen på hjärtat. Angiotensin II har därför varit ett viktigt läkemedelsmål vid hjärtviktsbehandling. Två vanliga läkemedelsklasser med målet att förhindra hypertoni medierat av angiotensin II är ACEI och ARB (8). ACE-hämmaren enalapril jämförs i studie I med Entresto (9). Entresto är en kombination av två aktiva substanser (valsartan och sakubitril). Tidigare har det funnits stöd för att neprilisyn-inhibitorer såsom omapatrilat kan vara gynnsamma för hjärtviktspatienter men detta läkemedel har även orsakat kraftigt angioödem som biverkan. Därför har denna läkemedelsklass inte varit framgångsrik och istället har ett nytt försök gjorts i studie I med Entresto. I studien jämförs istället enalapril med Entresto, där ACEI ersatts med ARB, hos hjärtviktspatienter med reducerad EF (<35%). Eftersom valsartan och sakubitril har mindre effekt på halterna av bradykinin och aminopeptidas P anses detta utbyte vara mer gynnsamt för hjärtviktspatienter då det leder till mindre biverkningar (angioödem, rethosta) än omapatrilat (27, 28, 9).

Studie I visar ytterligare fördelar med att använda Entresto. Studien visar att Entresto var överlägsen enalapril med NNT = 21. Det innebär att om 21 patienter behandlas med Entresto under 27 månader så kommer något av de primära utfallsvariablerna förhindras (kardiovaskulär död eller hjärtsviktshospitalisering). Bland andelen dödsfall på grund av kardiovaskulär orsak dominerade gruppen som tilldelats enalapril med 3,2% mer än de som behandlats med Entresto. Det var även färre som lades in på sjukhus på grund av kardiovaskulär orsak jämfört med enalapril. Generellt sett sågs en sämre biverkningsprofil hos ACEI eftersom fler patienter från enalaprilgruppen avbröt studien (ca 12%) jämfört med patienter som tog Entresto (9).

Att studien avslutades i förtid efter en uppföljningstid på 27 månader kan förklaras med att det tidigt sågs en skillnad i läkemedelseffekt mellan Entresto och enalapril. Andelen kvinnliga deltagare var låg (21%) men resultatet bör ändå kunna appliceras på kvinnor då 20% av 4000 patienter = 800 kvinnliga patienter. Resultatet är

tillräckligt övertygande för att kunna se att ACEI kan ersättas med Entresto men antalet patienter som drabbats av angioödem var större i gruppen som tilldelats Entresto. Detta tillstånd kom därför att bli kontraindicerat vid läkemedelsanvändning av Entresto. Det bör även tas hänsyn till att studien var sponsrad av Novartis och att det därför kan finnas en eventuell risk för överskattade siffror (9).

Syftet med examensarbetet var att undersöka om Entresto kan ersätta ACE-hämmare och om det är optimalt vid hjärtsvikt med avseende på farmakogenetiken. Förutom angioödem är farmakogenetiken ytterligare en faktor som kan förhindra behandlingseffekt med Entresto. En av de aktiva komponenterna i Entresto, sakubitril, men också enalapril aktiveras med hjälp av enzymet CES1. Genen för CES1 har en hög polymorficitet (>500–2000 nsSNPs) (37, 20). Studie II och studie III stödjer denna kunskap genom att undersöka den genetiska variabilitetens påverkan på substrat till CES1. Syftet med studie II var att undersöka effekten av olika genvarianter, duplikation och G143E-polymorfismen av CES1 på farmakokinetiken av enalapril. De olika parametrarna för enalapril visade ingen skillnad i farmakokinetiken av enalapril och enalaprilat på grupp-nivå hos de olika valda genotyperna. Enalaprilat visade en skillnad i halveringstid ( $t_{1/2}$ ) mellan grupp 6 (26.7 h) och kontrollgruppen (12.4 h). Dock anses inte denna skillnad vara kliniskt relevant. Om det inte begåtts TYP-II-fel anses Resultatet inte ha en kliniskt relevant påverkan på metabolismen av enalapril och enalaprilat och metabolismen är därmed oberoende av variabilitet i CES1-genen trots G143E (10). Eftersom antalet deltagare i studie II inte var tillräckligt stor för att säkerställa ett statistiskt samband (power) så bör vidare studier med fler deltagare göras för att inte riskera att begå TYP II-fel (63).

I en tidigare studie, som hade samma studiedesign och population men med ett annat enzymsubstrat till CES1 (metylfenidat), minskade metabolismen av metylfenidat när CES1 uttrycktes med G143E-genen. Detta gav därmed en ökad plasmakoncentration av metylfenidat och därför bör läkemedelsdoseringen av metylfenidat justeras till lägre nivåer för att förhindra eventuella biverkningar (10, 20). I andra studier har metabolismen av substratet istället ökat i samband med genetiska variationer av CES1, som i fallet med irinotecan. Således stärker detta och studie II påståendet att farmakokinetiken av CES1 är substratberoende och metabolismen varierar därmed från substrat till substrat. Det kan även ha en inverkan på sakubitril, ytterligare ett substrat till CES1 (10). Detta undersöktes i studie III (20).

Syftet med studie III var att identifiera vilket eller vilka enzymer som ansvarar för aktiveringen av sakubitril, var i kroppen aktivering sker samt att bestämma vilken inverkan den genetiska variabiliteten av CES1 har på aktiveringen. I tarmen och njurarna finns inga CES1-enzymmer men däremot uttrycks höga nivåer av CES2 medan CES1 uttrycks i levern. Då sakubitril endast aktiverades i levern (HLS9) konstateras att sakubitril är ett selektivt aktiverat substrat till CES1 i levern. Andra observationer som gjorts i studien och som stödjer denna slutsats är att sakubitril endast aktiverades av rekombinant CES1 och inte CES2. CES1-genvarianten G143E bidrar dessutom till en försämrad aktivering av sakubitril, vilket inte kan bortses

ifrån vid behandling med Entresto. G143E-genen kan därför möjligtvis fungera som en biomarkör för att optimera behandling med sakubitril (20).

Studie II och III ger belägg för att genetiken styr läkemedelseffekten då Entresto påverkas signifikant av genvariabiliteten. Ur ett farmakogenetiskt perspektiv vore det därför ogynnsamt att ersätta enalapril med Entresto eftersom mutationer i genen som kodar för CES1 endast påverkar Entresto signifikant och då riskeras utebliven effekt. Det selektiva CES1-substratet, sakubitril, kan därför få en försämrad aktivering om det förekommer ett utbyte mellan aminosyror (glycin och glutaminsyra) och därigenom skapar G143E (39). En sådan mutation visade sig inte ge samma utfall hos enalapril då farmakokinetiken inte visade någon signifikant förändring (10). Frekvensen av anlagsbärare med G143E varierar mellan 2–4% i olika populationer. Andelen är inte särskilt stor men eftersom hjärtsvikt är ett vanligt tillstånd med hög dödlighet kan denna kunskap vara av betydelse. Den uteblivna terapeutiska effekten kan bli en ekonomisk börda eftersom det finns en stor kostnadsskillnad mellan Entresto. Entresto kostar \$4000–\$5000 varje år jämfört med Enalapril som kostar \$50–\$100 varje år (20).

I Asien är genvarianten G143E väldigt ovanlig, vilket tycks vara positivt med tanke på det positiva utfallet från studie I (9, 20). Dock uppstår frågan om det, även i praktiken, finns en risk att behandling med Entresto riskerar förekomst av allvarliga oönskade biverkningar (rabdomyolys och Alzheimer's sjukdom) hos patienter med vildtyp CES1. Patienter med vildtyp CES1 är patienter utan mutationer som G143E och kan därför aktivera den neprilysinhämmande komponenten, sakubitril, i Entresto. Enzymet neprilysin kan därför inte bryta ner A $\beta$ , vilket ökar risken för en ackumulering av dessa peptider teoretiskt sett (20). Därför har undersökningar gjorts för att, även i praktiken, kunna se effekten av Entresto på A $\beta$ -isoformer. Detta redovisades i studie IV (35) medan studie V undersöker eventuella interaktioner och statin-inducerade biverkningar som rabdomyolys vid co-administration med Entresto och statiner (58).

Syftet med studie IV var att bedöma permeabiliteten av LBQ657 över blod-hjärnbarriären. Syftet var även att bedöma hur olika doser av Entresto påverkar isoformer av A $\beta$  i cerebrospinalvätskan (CSF) hos friska individer. Enligt resultatet passerar sakubitrilat över blod-hjärnbarriären och når den maximala plasmakoncentrationen 19.2 ng/mL i CSF under 14 dagar med rekommenderad dos av Entresto (400 mg QD). Studien visar även att Entresto inte förändrade koncentrationen av de A $\beta$ -isoformer i CSF som är mer benägna till aggregation (A $\beta$  1–40 och 1–42). Detta resultat bekräftas med den oförändrade AUC(0,36 h) för A $\beta$  1–40 and 1–42. Däremot sågs en ökning av koncentrationen av A $\beta$  1–38 i CSF men endast mellan 0–8h och efter 38h var koncentrationen på en nivå som inte visade statistisk signifikans då  $p > 0,05$ . Ökningen mellan 0–8h anses inte vara kliniskt relevant eftersom en koncentrationsökning av A $\beta$  1–38 i CSF endast har setts hos patienter med ärftlig AD på grund av mutationer och detta visade sig inte ha någon koppling till inhibering av neprilysin. Dessutom är A $\beta$  1–38 mer löslig än andra varianter och transporteras

därför lättare till hjärnan och till CSF. A $\beta$  1–38 kan därför lättare öka i samband med neprilysinbehandling (35).

Både denna och andra studier har visat att en hämning av neprilysinaktivitet inte är kliniskt relevant för AD i människor oavsett om det är en mutation i genen som kodar för neprilysin eller behandling med Entresto. Vidare studier med längre durationstid rekommenderas för att kunna identifiera eventuella framtida skador av A $\beta$ -plack i samband med behandling av Entresto. En längre behandlingstid blir relevant att undersöka då Entresto är indicerat vid kronisk hjärtsvikt och används därför till patienter som behandlas under en betydligt längre tid än 2 veckor. Detta skulle även kunna garantera patientsäkerheten och undvika ett underskattat resultat (35).

Rabdomyolys kan vara en annan konsekvens för patienter som behandlas med Entresto. Ett fall där detta rapporterats beskrivs i studie V (fallrapport). Fallrapporten handlar om en 63-årig sydamerikansk kvinna som behandlats med olika läkemedel som carvedilol, digoxin, furosemid, spironolakton, rivaroxaban, enalapril och atorvastatin utan oacceptabla biverkningar. Behandling med enalapril ersattes med Entresto, 24/26 mg BID och efter 26 dagar rapporterade kvinnan muskelsmärter. Genom att mäta CPK-, AST- och ALT-värden konstaterades att patienten utvecklat rabdomyolys (58).

Carvedilol riskerar att öka plasmakoncentrationen av atorvastatin på grund av sin inhiberande effekt på P-glykoprotein men denna kombination hade använts av kvinnan i fallrapporten under 7 år utan förekomst av rabdomyolys. Övriga läkemedel som hon tog har inte heller någon känd effekt som kan ge rabdomyolys eller ökade nivåer av transaminaser. Däremot förekommer en läkemedelsinteraktion mellan sakubitril och statiner. En kombinationsbehandling med dessa läkemedel leder till en risk för en tvåfaldig ökning av C<sub>max</sub> avseende atorvastatin och dess metaboliter. Studien visade även att utsättning av endast statiner inte reducerade patientens nivåer av transaminaser utan det var inte förrän även Entresto försvann ur patientens läkemedelsanvändning som patientens värden för CPK, AST och ALT återvände till normala värden. Det senare kan antingen bero på en direkt biverkan av Entresto eller en ökad plasmakoncentration av statinpreparatet till följd av kombinationsbehandling med Entresto och atorvastatin. Dessa läkemedel fick därför sättas ut och patienten återgick till normala värden inom 23 dagar. Förklaringen bakom händelsen riktar sig främst mot Entresto eftersom patienten sedan tidigare (ca 7 år) behandlats med statiner. Under den perioden var hennes nivåer av CPK, AST och ALT normala och Entresto fanns inte i läkemedelsbehandlingen (58).

Andra orsaker utöver behandling med Entresto är att det sedan tidigare är känt att mutationer i generna SLCO1B1 och SLCO1B3 kan orsaka en för hög AUC av atorvastatin. Detta kan dock inte heller vara orsaken eftersom patientens rabdomyolys inte startade förrän efter behandling med Entresto. Sakubitril har även förmågan att inhibera 1B1 och 1B3 och eftersom dessa medverkar i clearance av atorvastatin ökas därmed risken för statin-inducerade biverkningar (59). Således är

det mer sannolikt att behandling med Entresto var orsaken bakom den ökade plasmakoncentrationen av atorvastatin som i sin tur utvecklade rabdomyolys hos patienten (58).

Eftersom studie V är en fallrapport rekommenderas att vidare studier görs med syftet att undersöka den potentiellt negativa effekten av kombinationsterapi med Entresto och statiner. Detta för att förhindra nya fall och identifiera eventuella högriskpatienter. Patienter som behandlas med statiner bör även uppmanas till dosjustering av sina statinpreparat vid co-administration med Entresto. Detta för att undvika läkemedelsinteraktioner och utveckling av statin-inducerade biverkningar som, i det här fallet, rabdomyolys (57).

## **SLUTSATS**

Genetiska skillnader i CES1-genen (G143E) utgör en stor källa till varierande läkemedelssvar. Behandling med Entresto kan då leda till utebliven terapeutisk effekt medan farmakokinetiken av enalapril inte påverkas i lika hög grad. Ur ett farmakogenetiskt perspektiv, och även ur ett kostnadsperspektiv, kan det därför vara gynnsamt att inte ersätta enalapril med Entresto vid hjärtsvikt. Hjärtsvikt medför hög morbiditet och mortalitet, vilket skapar ett behov av bättre farmakologisk behandling som exempelvis Entresto. Dock bör det tas hänsyn till att det, teoretiskt sett, finns risk att patienter med vildtyp CES1 drabbas av oacceptabla biverkningar som Alzheimer's sjukdom men även rabdomyolys. Studier som undersöker risken att drabbas av Alzheimer's sjukdom vid behandling med Entresto har inte visat stark evidens men det rekommenderas att vidare studier görs med längre uppföljningstid för att garantera patientsäkerheten. Statinbehandlade patienter uppmanas istället till dosjustering av sina statinpreparat vid co-administration med Entresto för att undvika rabdomyolys.

## **TACKORD**

Ett stort tack till handledaren, Ran Friedman, för tiden han spenderade på att ge goda råd, vägledning och annan värdefull hjälp vid skrivandet.

## REFERENSER

1. Björn E, Persson H. Hjärtsvikt | Läkemedelsboken: Läkemedelsboken; 2017 [cited 2018-01-14]. Available from: [https://lakemedelsboken.se/kapitel/hjarta-karl/hjartsvikt.html?search=hj%C3%A4rtsvikt&id=e2\\_3#e2\\_3](https://lakemedelsboken.se/kapitel/hjarta-karl/hjartsvikt.html?search=hj%C3%A4rtsvikt&id=e2_3#e2_3)
2. Andersson B. Hjärtsvikt - kronisk: Internetmedicin; 2018 [cited 2018-01-14]. Available from: <http://www.internetmedicin.se/page.aspx?id=103>
3. Han Y, Ayalasomayajula S, Pan W, Yang F, Yuan Y, Langenickel T, et al. Pharmacokinetics, Safety and Tolerability of Sacubitril/Valsartan (LCZ696) After Single-Dose Administration in Healthy Chinese Subjects. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2017;42(1):109-16.
4. Diagnostik och behandling av kronisk hjärtsvikt – Behandlingsrekommendation. Information från Läkemedelsverket. 2018;2006(1):7-15.
5. Praktisk medicin. Hjärtinfarkt. Instabil angina pectoris [Internet]. Göteborg, Lund: Add Health Media AB; [uppdaterad 2017; citerad 2018-01-14]. Hämtad från/Available from: <https://www.praktiskmedicin.se/sjukdomar/hjartinfarkt-2/>
6. Dagues N, Hindricks G. Risk stratification after myocardial infarction: is left ventricular ejection fraction enough to prevent sudden cardiac death? *Eur Heart J.* 2013;34(26):1964-71.
7. Nordeng H, Spigset O, editors. Farmakologi och läkemedelsanvändning. 2 uppl. Lund: Studentlitteratur AB; 2014.
8. Norlén P, Lindström E. Farmakologi. 3 uppl. Stockholm: Liber AB; 2014.
9. McMurray JJ, Packer M, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkala AR, et al. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl J Med.* 2014;371(11):993-1004.
10. Stage C, Jurgens G, Guski LS, Thomsen R, Bjerre D, Ferrero-Miliani L, et al. The Pharmacokinetics of Enalapril in Relation to CES1 Genotype in Healthy Danish Volunteers. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2017;121(6):487-92.
11. Lemke LT, Williams AD, Roche FV. Foyes principles of medicinal chemistry. 7 Uppl. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
12. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). *N Engl J Med.* 1987;316(23):1429-35.
13. Parienti JJ, Bangsberg DR, Verdon R, Gardner EM. Better adherence with once-daily antiretroviral regimens: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2009;48(4):484-8.
14. Hjärtsvikt med nedsatt systolisk vänsterkammarfunktion (EF <40-45%) [Internet]. Stockholm: Janusinfo; 2016 [2018-01-17]. Hämtad från/Available from: <http://klokalistan.janusinfo.se/2016/Hjarta-och-karl/Hjartsvikt/>
15. Hubers SA, Brown NJ. Combined Angiotensin Receptor Antagonism and Neprilysin Inhibition. *Circulation.* 2016;133(11):1115-24.

16. Riddell E, Vader JM. Potential Expanded Indications for Neprilysin Inhibitors. *Curr Heart Fail Rep.* 2017;14(2):134-45.
17. Hake C. Omtalat läkemedel mot hjärtsvikt är nu godkänt. *Dagens Medicin* [Internet]. 2015 [2018-01-15]; Hämtad från/Available from: <https://www.dagensmedicin.se/artiklar/2015/11/25/omtalat-lakemedel-mot-hjartsvikt-ar-nu-godkant/>
18. Fala L. Entresto (Sacubitril/Valsartan): First-in-Class Angiotensin Receptor Neprilysin Inhibitor FDA Approved for Patients with Heart Failure. *American Health & Drug Benefits.* 2015;8(6):330-4.
19. Kunskapsguiden.se [Internet]. Socialstyrelsen; 2016- . [2018-01-15]. Hämtad från/Available from: [http://www.kunskapsguiden.se/aldre/Kunskapsunderlag/Beslutomssubvention\\_avlakemedel/Sidor/Entresto-ingar-i-hogkostnadsskyddet-for-gallande-indikation.aspx](http://www.kunskapsguiden.se/aldre/Kunskapsunderlag/Beslutomssubvention_avlakemedel/Sidor/Entresto-ingar-i-hogkostnadsskyddet-for-gallande-indikation.aspx)
20. Shi J, Wang X, Nguyen J, Wu AH, Bleske BE, Zhu HJ. Sacubitril Is Selectively Activated by Carboxylesterase 1 (CES1) in the Liver and the Activation Is Affected by CES1 Genetic Variation. *Drug Metab Dispos.* 2016;44(4):554-9.
21. Palmer E. Artikelns titel. Novartis' Entresto uptake better in EU as U.S. warms slowly to new heart meds [Internet]. 2016-04-22 [2018-02-15]; Available from: <https://www.fiercepharma.com/pharma/novartis-entresto-uptake-better-eu-as-u-s-warms-slowly-to-new-heart-meds>
22. Claesson A, Svensson U. *Läkemedelskemi. 4 uppl. Rönninge: Awametox Consulting; 2016.*
23. Langenickel TH, Dole WP. Angiotensin receptor-neprilysin inhibition with LCZ696: a novel approach for the treatment of heart failure. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies.* 2012;9(4):e131-e9.
24. Kaplinsky E. Changing the treatment of heart failure with reduced ejection fraction: clinical use of sacubitril-valsartan combination. *Journal of Geriatric Cardiology : JGC.* 2016;13(11):914-23.
25. Phreaner N, Greenberg BH. Entresto (Sacubitril/Valsartan): Angiotensin Receptor Neprilysin Inhibition for Treating Heart Failure. *Current Emergency and Hospital Medicine Reports.* 2017;5(2):47-55.
26. Lippi G, Sanchis-Gomar F. Monitoring B-type natriuretic peptide in patients undergoing therapy with neprilysin inhibitors. An emerging challenge? *International Journal of Cardiology.* 2016;219:111-4.
27. Bavishi C, Messerli FH, Kadosh B, Ruilope LM, Kario K. Role of neprilysin inhibitor combinations in hypertension: insights from hypertension and heart failure trials. *European Heart Journal.* 2015;36(30):1967-73.
28. Jhund PS, McMurray JJV. The neprilysin pathway in heart failure: a review and guide on the use of sacubitril/valsartan. *Heart.* 2016;102(17):1342.
29. Tamargo J, Rosano G, Walther T, Duarte J, Niessner A, Kaski JC, et al. Gender differences in the effects of cardiovascular drugs. *European Heart Journal - Cardiovascular Pharmacotherapy.* 2017;3(3):163-82.

30. Gan L, Langenickel T, Petruck J, Kode K, Rajman I, Chandra P, et al. Effects of age and sex on the pharmacokinetics of LCZ696, an angiotensin receptor neprilysin inhibitor. *J Clin Pharmacol*. 2016;56(1):78-86.
31. Thomsen R, Rasmussen HB, Linnet K. In vitro drug metabolism by human carboxylesterase 1: focus on angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Drug Metab Dispos*. 2014;42(1):126-33.
32. Laizure SC, Herring V, Hu Z, Witbrodt K, Parker RB. The role of human carboxylesterases in drug metabolism: have we overlooked their importance? *Pharmacotherapy*. 2013;33(2):210-22.
33. Ross MK, Borazjani A, Wang R, Allen Crow J, Xie S. Examination of the carboxylesterase phenotype in human liver. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2012;522(1):44-56.
34. Nielsen PM, Grimm D, Wehland M, Simonsen U, Kruger M. The Combination of Valsartan and Sacubitril in the Treatment of Hypertension and Heart Failure - an Update. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2018;122(1):9-18.
35. Langenickel TH, Tsubouchi C, Ayalomasajula S, Pal P, Valentin MA, Hinder M, et al. The effect of LCZ696 (sacubitril/valsartan) on amyloid-beta concentrations in cerebrospinal fluid in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2016;81(5):878-90.
36. Jones RD, Taylor AM, Tong EY, Repa JJ. Carboxylesterases Are Uniquely Expressed among Tissues and Regulated by Nuclear Hormone Receptors in the Mouse. *Drug Metabolism and Disposition*. 2013;41(1):40-9.
37. Beitelshees AL, Voora D, Lewis JP. Personalized antiplatelet and anticoagulation therapy: applications and significance of pharmacogenomics. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2015;8:43-61.
38. Sai K, Saito Y, Tatewaki N, Hosokawa M, Kaniwa N, Nishimaki-Mogami T, et al. Association of carboxylesterase 1A genotypes with irinotecan pharmacokinetics in Japanese cancer patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2010;70(2):222-33.
39. Sanford JC, Wang X, Shi J, Barrie ES, Wang D, Zhu HJ, et al. Regulatory effects of genomic translocations at the human carboxylesterase-1 (CES1) gene locus. *Pharmacogenet Genomics*. 2016;26(5):197-207.
40. Smigielski EM, Sirotkin K, Ward M, Sherry ST. dbSNP: a database of single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Research*. 2000;28(1):352-5.
41. Wang X, Rida N, Shi J, Wu AH, Bleske BE, Zhu H-J. A Comprehensive Functional Assessment of Carboxylesterase 1 Nonsynonymous Polymorphisms. *Drug Metabolism and Disposition*. 2017;45(11):1149.
42. Zhu HJ, Patrick KS, Yuan HJ, Wang JS, Donovan JL, DeVane CL, et al. Two CES1 gene mutations lead to dysfunctional carboxylesterase 1 activity in man: clinical significance and molecular basis. *Am J Hum Genet*. 2008;82(6):1241-8.
43. Lewis JP, Horenstein RB, Ryan K, O'Connell JR, Gibson Q, Mitchell BD, et al. The functional G143E variant of carboxylesterase 1 is associated with increased clopidogrel active metabolite levels and greater clopidogrel response. *Pharmacogenet Genomics*. 2013;23(1):1-8.



44. Schiering N, D'Arcy A, Villard F, Ramage P, Logel C, Cumin F, et al. Structure of neprilysin in complex with the active metabolite of sacubitril. *Scientific Reports*. 2016;6:27909.
45. Nalivaeva NN, Belyaev ND, Kerridge C, Turner AJ. Amyloid-clearing proteins and their epigenetic regulation as a therapeutic target in Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2014;6:235.
46. Vodovar N, Paquet C, Mebazaa A, Launay JM, Hugon J, Cohen-Solal A. Neprilysin, cardiovascular, and Alzheimer's diseases: the therapeutic split? *Eur Heart J*. 2015;36(15):902-5.
47. Nalivaeva NN, Belyaev ND, Zhuravin IA, Turner AJ. The Alzheimer's Amyloid-Degrading Peptidase, Neprilysin: Can We Control It? *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2012;2012:12.
48. Cummings JL, Isaacson RS, Schmitt FA, Velting DM. A practical algorithm for managing Alzheimer's disease: what, when, and why? *Annals of Clinical and Translational Neurology*. 2015;2(3):307-23.
49. Tanzi RE. The genetics of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(10).
50. Zhang H, Liu D, Wang Y, Huang H, Zhao Y, Zhou H. Meta-analysis of expression and function of neprilysin in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*. 2017;657:69-76.
51. Bayes-Genis A, Barallat J, Richards AM. A Test in Context: Neprilysin: Function, Inhibition, and Biomarker. *J Am Coll Cardiol*. 2016;68(6):639-53.
52. Rbdomyolys [Internet]. Stockholm: Janusinfo; 2017 [2017-09-26; 2018-01-17]. Hämtad från/Available from: <http://www.janusinfo.se/Akut-internmedicin/Nefrologi/Rbdomyolys/#behandling/>
53. Torres PA, Helmstetter JA, Kaye AM, Kaye AD. Rhabdomyolysis: Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. *The Ochsner Journal*. 2015;15(1):58-69.
54. Raju NA, Rao SV, Joel JC, Jacob GG, Anil AK, Gowri SM, et al. Predictive Value of Serum Myoglobin and Creatine Phosphokinase for Development of Acute Kidney Injury in Traumatic Rhabdomyolysis. *Indian J Crit Care Med*. 2017;21(12):852-6.
55. Keltz E, Khan FY, Mann G. Rhabdomyolysis. The role of diagnostic and prognostic factors. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*. 2013;3(4):303-12.
56. Weibrecht K, Dayno M, Darling C, Bird SB. Liver Aminotransferases Are Elevated with Rhabdomyolysis in the Absence of Significant Liver Injury. *Journal of Medical Toxicology*. 2010;6(3):294-300.
57. Westman PC, Lipinski MJ. The use of statins in patients with heart failure: more questions than answers. *Journal of Thoracic Disease*. 2015;7(10):1687-90.
58. Faber ES, Gavini M, Ramirez R, Sadovsky R. Rhabdomyolysis After Coadministration of Atorvastatin and Sacubitril/Valsartan (Entresto™) in a 63-Year-Old Woman. *Drug Safety - Case Reports*. 2016;3:14.
59. Ayalasomayajula S, Han Y, Langenickel T, Malcolm K, Zhou W, Hanna I, et al. In vitro and clinical evaluation of OATP-mediated drug interaction

- potential of sacubitril/valsartan (LCZ696). *J Clin Pharm Ther.* 2016;41(4):424-31.
60. Maji D, Shaikh S, Solanki D, Gaurav K. Safety of statins. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism.* 2013;17(4):636-46.
  61. Källa för NNT: Svangren P. Number needed to treat (NNT) – sunt eller dumt som underlag för beslut?. *Läkartidningen.* 2007;104(22):sidor 1690-1694.
  62. Von Euler M. Farmakologiska begrepp [Internet]. Stockholm: Janusinfo; 2014 [uppdaterad 2014-08-09; citerad 2018-01-20]. Hämtad från/Available from: <http://www.janusinfo.se/Beslutsstod/Las-mer/Farmakologiska-begrepp/>
  63. Banerjee A, Chitnis UB, Jadhav SL, Bhawalkar JS, Chaudhury S. Hypothesis testing, type I and type II errors. *Industrial Psychiatry Journal.* 2009;18(2):127-31.
  64. Tiia K, Kati-Henna P, Mario T, Antti L, Wilhelm S, Risto K. Screening of In Vitro Synthesised Metabolites of 4,9,11-Trien-3-One Steroids by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *European Journal of Mass Spectrometry.* 2008;14(3):181-9.
  65. Vijayanathan A, Nawawi O. The importance of Good Clinical Practice guidelines and its role in clinical trials. *Biomed Imaging Interv J.* 2008;4(1):e5.
  66. Yin LK, Tong KS. Elevated Alt and Ast in an Asymptomatic Person: What the primary care doctor should do? *Malays Fam Physician.* 2009;4(2-3):98-9.



**Linnéuniversitetet**

391 82 Kalmar  
Tel 0480-446200  
info@lnu.se  
Lnu.se