

Azatioprin u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom

Barun, Franjo

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:376298>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Franjo Barun

**Azatioprin u liječenju bolesnika s ulceroznim
kolutisom**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra *Sestre milosrdnice* Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom prof. dr. sc. Nevena Ljubičića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2020./2021.

Popis kratica:

ACG – engl. *The American College of Gastroenterology*

AZA – azatioprin

br. – broj

CD – Crohnova bolest (engl. *Crohn's disease*)

CRP – C-reaktivni protein

dL – decilitar

ECCO – Europska organizacija za Crohnovu bolest i kolitis (engl. *European Crohn's & Colitis Organization*)

g – gram

h – sat (engl. *hour*)

Hb –hemoglobin

HPRT – hipoksantin fosforiboziltransferaza (engl. *hypoxanthine phosphoribosyltransferase*)

i.e. – to jest (lat. *id est*)

IBD – upalna bolest crijeva (engl. *inflammatory bowel disease*)

IL – interleukin

IMPDH – inozin 5-monofosfat dehidrogenaza (engl. *inosine 5-monophosphate dehydrogenase*)

IPAA – ilealni zdjelični rezervoar i ileoanalna anastomoza (engl. *ileal pouch-anal anastomosis*)

L – litra

LDTA – koterapija niskom dozom tiopurina i alopurinolom (engl. *low dose thiopurine and allopurinol co-therapy*)

MAdCAM-1 – mukozno adresirana stanična adhezijska molekula 1 (engl. *mucosal addressin cell adhesion molecule 1*)

MAPK – mitogenom aktivirana protein kinaza

MeMP – metilmerkaptopurin

mg – miligram

mm – milimetar

MMX – engl. *multi matrix*

NF- κ B – nuklearni čimbenik kapa B

PHD – patohistološka dijagnoza

pmol – pikomol

PPAR- γ – peroksisomnim proliferatorom aktiviran receptor γ

SE – sedimentacija eritrocita

sur. – suradnici

tj. – to jest

TPMT – tiopurin S-metiltransferaza

TGN – tiogvaninski nukleotid

TNF- α – čimbenik tumorske nekroze α (engl. *tumor necrosis factors- α*)

UC – ulcerozni kolitis (engl. *ulcerative colitis*)

UCeIS – endoskopski indeks aktivnosti ulceroznog kolitisa (engl. *Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity*)

XO – ksantin oksidaza (engl. *xanthine oxidase*)

5-ASA – 5-aminosalicilna kiselina (engl. *5-aminosalicylic acid*)

6-MMP – 6-metilmerkaptopurin

6-MMPN – 6-metilmerkaptopurin nukleotid

6-MP – 6-merkaptopurin

6-TGN – 6-tiogvaninski nukleotid

6-TIMP – 6-tioinozin 5-monofosfat (engl. *6-thioinosine 5-monophosphate*)

6-TU – 6-tiourična kiselina (engl. *6-thiouric acid*)

Sadržaj

1. Sažetak	I
2. Summary	III
3. Uvod	1
3.1. Ulcerozni kolitis	1
3.2. Suvremena farmakoterapija ulceroznog kolitisa	7
3.3. Kirurško liječenje bolesnika s ulceroznim kolitisom	11
4. Metabolizam tiopurina	12
5. Uloga tiopurin S-metiltransferaze	13
6. Klinički učinci tiopurina	15
6.1. Učinkovitost tiopurina kao monoterapije u liječenju bolesnika s UC-om	16
6.1.1. Učinkovitost u indukciji remisije	16
6.1.2. Učinkovitost u održavanju remisije	16
6.2. Učinkovitost tiopurina u sklopu kombinirane terapije zajedno s infliximabom ...	17
6.3. Monitoring metabolita i optimizacija kliničkog odgovora	19
7. Neželjeni učinci tiopurina	21
7.1. Neželjeni učinci u gastrointestinalnom sutavu	21
7.2. Neželjeni učinci na koštano srž	21
7.3. Hepatotoksičnost	22
7.4. Pankreatitis	22
8. Zaključak	23
9. Zahvale	24
10. Literatura	25
11. Životopis	29

1. Sažetak

Azatioprin u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom

Franjo Barun

Ulcerozni kolitis (UC) kronična je upalna bolest za koju su karakteristične ulceracije sluznice debelog crijeva. Zajedno s Crohnovom bolešću spada u skupinu idiopatskih upalnih bolesti crijeva. Riječ je o netransmuralnoj upalnoj bolesti ograničenoj na debelo crijevo, s kliničkim tijekom obilježenim razdobljima remisije i relapsa bolesti. Prema Montrealskoj klasifikaciji, ovisno o tome koji je dio debelog crijeva zahvaćen bolešću, razlikujemo: proktitis, lijevostrani kolitis i ekstenzivni kolitis, te ovisno o aktivnosti, odnosno težini bolesti: blagi, umjereni, teški UC i kliničku remisiju. Klinički se UC najčešće očituje učestalim sluzavo-krvavim proljevima. Razlikujemo njegovo medikamentno i kirurško liječenje. Medikamentno liječenje nije kurativno, već je usmjereno na postizanje kliničke, endoskopske i histološke remisije bolesti te sprječavanje kirurških intervencija. Ono se provodi uporabom aminosalicilata, kortikosteroida, imunomodulatornih lijekova, kao što je azatioprin (AZA) te biološkom terapijom. Azatioprin je tiopurin koji imunosupresiju postiže putem svojih aktivnih metabolita. Oni potiču apoptozu T-limfocita te, inkorporirajući se u replicirajući lanac DNA i blokirajući *de novo* sintezu purina, smanjuju njihovu proliferaciju. Mjerenjem aktivnosti TPMT-a te praćenjem metabolita tiopurina, uspješno se postiže optimizacija terapije. Time se poboljšava klinička djelotvornost liječenja te se sprječava neuspjeh liječenja uzrokovan štetnim nuspojavama azatioprina, kao što je pankreatitis. Zbog intenzivnog razvoja biološke terapije, stručnjaci smatraju da se azatioprin u budućnosti više neće koristiti u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom. Unatoč prepostavkama, azatioprin ostaje i dalje jedan od osnovnih lijekova u liječenju

bolesnika s ulceroznim kolitisom. Nove smjernice ACG-a, ECCO-a te *Toronto consensusa* podržavaju uporabu tiopurina u liječenju bolesnika s UC-om u sljedećim slučajevima: 1) u svrhu održavanje remisije u bolesnika s ograničenom ekstenzijom bolesti i blagim do umjerenim UC-om koji ne podnose ili prestaju reagirati na liječenje aminosalicilatima; 2) u svrhu održavanja remisije u bolesnika s teškim akutnim UC-om u kojih je indukcija remisije postignuta ciklosporinom; te 3) u kombinaciji s TNF- α antagonistima u liječenju bolesnika s umjerenim do teškim UC-om.

Ključne riječi: ulcerozni kolitis, azatioprin, TPMT, biološka terapija

2. Summary

Azathioprine in the treatment of patients with ulcerative colitis

Franjo Barun

Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory disease characterized by ulcerative lesions of the colon mucosa. Together with Crohn's disease, it belongs to a group of conditions known as inflammatory bowel diseases. It is a nontransmural inflammatory disease with a clinical course characterized by periods of remissions and relapses. According to the Montreal classification, depending on the part of the affected colon, it can be defined as: proctitis, left colitis, or extensive colitis, whereas according to the activity or severity, as: mild, moderate, severe UC and clinical remission. The most common clinical symptom of UC is frequent bloody diarrhea usually accompanied by mucus. UC can be managed by medicaments and surgical treatment. Conservative treatment is focused on achieving clinical, endoscopic and histological remission. It is carried out by using aminosalicylates, corticosteroids, immunomodulatory drugs, such as azathioprine (AZA) and the biological therapy. Azathioprine is a thiopurine which achieves immunosuppression through its active metabolites. They induce apoptosis of T-lymphocytes and, by incorporating into the replicating DNA chain and blocking *de novo* purine synthesis, reduce its proliferation. The measurement of TPMT activity as well as thiopurine metabolite monitoring successfully lead to a therapy optimization. Thus, improving clinical effectiveness of the therapy and reducing management failure from adverse effects, such as pancreatitis. Due to the intensive development of biological therapy, experts believe that thiopurines will in future no longer be used as therapy in patients with UC. Despite these assumptions, thiopurines are still one of the basic therapies in the treatment of patients with UC.

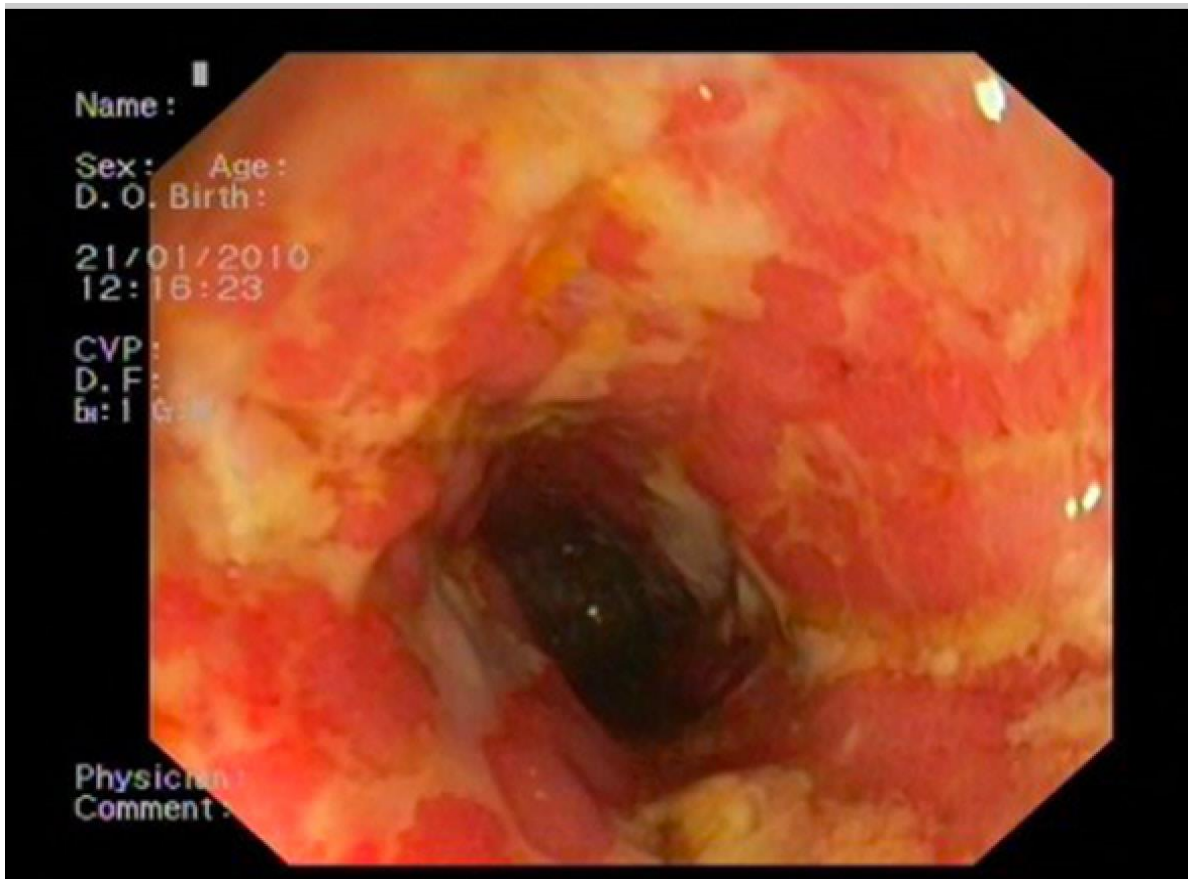
Recent guidelines from the ACG, ECCO and *Toronto Consensus* support the use of thiopurines in the treatment of patients with ulcerative colitis in the following cases: 1) maintenance of remission in patients with confined extension of disease and mild-to-moderate UC who are intolerant to or fail aminosalicylates; 2) as a maintenance therapy after using cyclosporine for acute severe UC; and 3) as combination therapy with TNF- α antagonists in patients with moderate to severe UC.

Keywords: ulcerative colitis, azathioprine, TPMT, biological therapy

3. Uvod

3.1. Ulcerozni kolitis

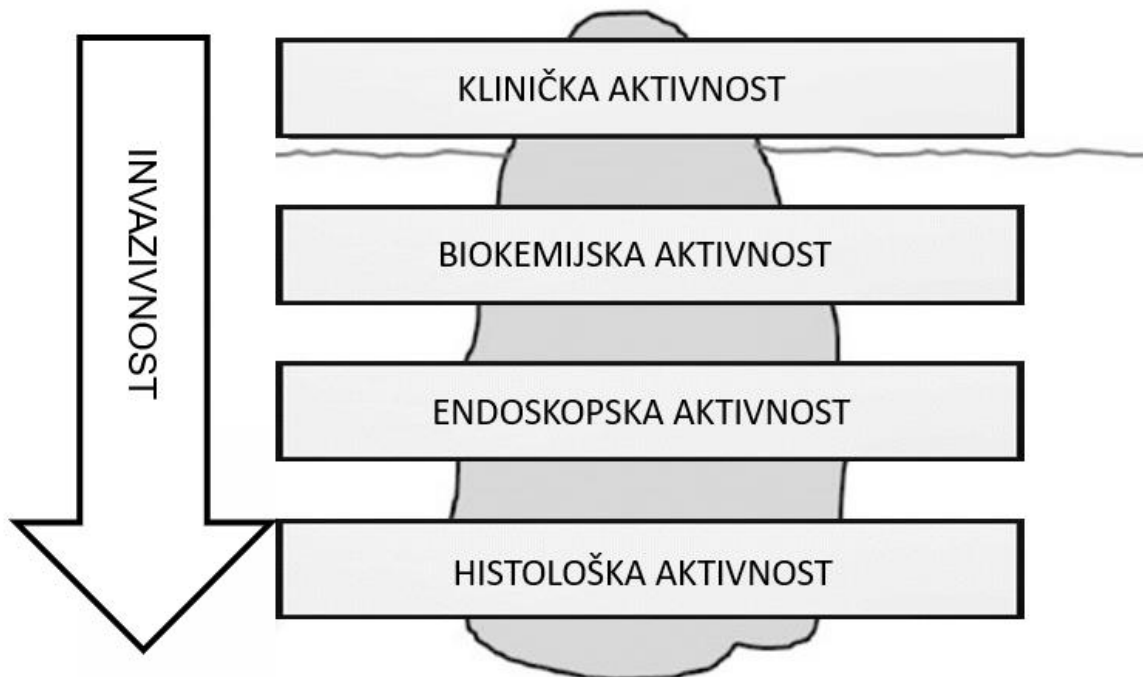
Ulcerozni kolitis (UC) kronična je upalna bolest za koju su karakteristične ulceracije sluznice debelog crijeva (1) (slika 1). Zajedno s Crohnovom bolešću spada u skupinu idiopatskih upalnih bolesti crijeva (2). Iako točan uzrok nije još do kraja razjašnjen, smatra se da nastaje kao posljedica poremećenog imunološkog odgovora, u genetski predisponiranih pojedinaca, na mikrobne antigene lumena crijeva (3).



Slika 1: Endoskopski prikaz longitudinalnih ulceracija sluznice debelog crijeva u bolesnika s UC-om

UC ima bimodalnu dobnu distribuciju. Najčešće se javlja u osoba u dobi od 15 do 30 godina, a rjeđe u dobi od 50 do 70 godina. Podjednako zahvaća muškarce i žene (4). Pojavnost UC-a povezuju se sa zapadnjačkim stilom života i sjevernim geografskim širinama. Epidemiološki podaci ukazuju na porast incidencije ulceroznog kolitisa u zemljama u razvoju (5). U razvijenim zemljama incidencija je dosegla plato, dok je prevalencija u porastu zbog produljenog preživljenja bolesnika (6). Analizom podataka, u Hrvatskoj je tijekom posljednjih 30-ak godina utvrđen značajni porast incidencije ulceroznog kolitisa, što se prepisuje modernizaciji, odnosno *vesternalizaciji* životnog stila. Prema podacima epidemiološke studije provedene u Splitu u razdoblju od 2006. do 2014. godine, godišnja stopa incidencije UC-a iznosila je 9/100,000 stanovnika (7). Početna lokalizacija bolesti je rektum, odakle se može širiti u kontinuitetu prema proksimalno (8). Ovisno o tome koji dio kolona je zahvaćen bolešću, prema Montrealskoj klasifikaciji razlikujemo: proktitis, lijevostrani kolitis te ekstenzivni kolitis, odnosno pankolitis (tablica 1). U nekih bolesnika s ulceroznim kolitisom može se javiti terminalni ileitis, što u pojedinim slučajevima može otežati razlikovanje ulceroznog kolitisa od Crohnove bolesti (9). UC je netransmuralna upalna bolest koja zahvaća sluznicu i podsluznicu debelog crijeva (9) (10). Klinički tijek u većine je bolesnika obilježen razdobljima relapsa i remisije bolesti, dok se u manjeg broja može javiti trajna bolest koja ne odgovara na terapiju te fulminanti oblik (11). Klinički se najčešće očituje učestalim sluzavo-krvavim proljevima (12). U nekih bolesnika razvijaju se i ekstraintestinalne komplikacije. One najčešće zahvaćaju mišićno-koštani sustav, kožu, oči te hepatobilijarni sustav. Pojavnost i težina ekstraintestinalnih komplikacija neovisni su o kliničkom tijeku osnovne bolesti (9).

Procjena aktivnosti, odnosno težine UC-a može se provesti na različitim razinama pa tako razlikujemo; kliničku, biokemijsku (mjerenjem CRP-a ili kalprotektina u stolici), endoskopsku te histološku aktivnost UC-a. Ako je bolesnik u kliničkoj remisiji, ne mora značiti da je u biokemijskoj, endoskopskoj, odnosno histološkoj remisiji. Za procjenu biokemijske, endoskopske odnosno histološke aktivnosti potrebno je provesti sve invazivnije postupke (uzorak krvi, endoskopija, biopsija). Procjena aktivnosti u bolesnika s ulceroznim kolitisom odgovara fenomenu sante leda, pri čemu kliničkom procjenom možemo zaključiti da se radi o kliničkoj remisiji, a da upalna aktivnost bude prisutna na biokemijskoj, endoskopskoj te histološkoj razini (slika 2) (13).



Slika 2: Fenomen sante leda u procjeni aktivnosti bolesti u bolesnika s upalnom bolesti crijeva. Prema Rogler i sur. (2013) (13)

U svrhu procjene aktivnosti, odnosno težine bolesti, koriste se različiti indeksi koji se temelje na kliničkim i biokemijskim parametrima te procjeni endoskopske aktivnosti bolesti. Osim indeksa, u svrhu procjene aktivnosti bolesti, koriste se i metode mjerenja kvalitete života te histološke aktivnosti bolesti. Istraživanja su pokazala da se za procjenu aktivnosti UC-a u svakodnevnoj praksi najčešće koristi neka od modifikacija Trueloveovog i Wittsovog indeksa, koji aktivnost bolesti procjenjuje na temelju kliničkih i biokemijskih parametara, dok se u kliničkim studijama najčešće koristi originalni ili modificirani Mayo Clinic indeks. On se temelji na zajedničkoj, kliničkoj i endoskopskoj procjeni aktivnosti bolesti (14). Validirani endoskopski indeks aktivnosti (UCeIS), kao najobuhvatniji indeks, sve se više uvodi u svakodnevnu praksu (15). Prema Montrealskoj klasifikaciji, modifikaciji Trueloveovog i Wittsovog indeksa, uz remisiju bolesti razlikujemo blagi, umjereni te teški ulcerozni kolitis (tablica 2). Kliničku remisiju, prema autorima, karakteriziraju: 1-2 stolice dnevno, odsustvo primjesa krvi u stolici, odsustvo sistemskih simptoma, te uredne vrijednosti hemoglobina i sedimentacije (14). Blagi oblik karakteriziran je pojavom do četiri stolice na dan, koje mogu biti praćene primjesama krvi. Umjereni oblik praćen je pojavom 4-6 krvavih stolica dnevno. Spomenuti oblici bolesti javljaju se uz odsutnost znakova sistemskog odgovora organizma. Teški oblik karakteriziran je pojavom šest i više krvavih stolica dnevno, praćenih znakovima sistemske zahvaćenosti (9). O aktivnosti bolesti ovisi odluka o odabiru vrste liječenja (14).

Kako ne postoji patognomonični test za njeno postavljanje, dijagnoza UC-a postavlja se na temelju kliničke prezentacije i dijagnostičkih pretraga. Dijagnostičke pretrage koje se koriste u dijagnostici su: laboratorijske, endoskopske i radiološke pretrage te patohistološka analiza (12). Pri njenom postavljanju, potrebno je isključiti druge

upalne, toksične, vaskularne, neoplastične i infektivne uzroke kolitisa, a od koristi može biti i određivanje kalprotektina u stolici (9)(11).

Tablica 1: Montrealska klasifikacija proširenosti ulceroznog kolitisa. Prema Katičić (2013) (14)

OZNAKA	PROŠIRENOST	OPIS
E1	Proktitis	UC zahvaća samo rektum (proksimalna granica bolesti niže je od rektosigmoidalnog prijelaza)
E2	Lijevostrani kolitis	UC proširen na kolon distalnije od lijenalne fleksure (analogno 'distalnom' kolitisu)
E3	Prošireni (ekstenzivni) kolitis	UC proširen i proksimalnije od lijenalne fleksure, uključujući i pankolitis

Tablica 2: Montrealska klasifikacija aktivnosti bolesti u bolesnika s UC-om. Prema Katičić (2013) (14)

	S0	S1	S2	S3
	Remisija	Blagi	Umjereni	Teški
Broj stolice/dan	Bez simptoma bolesti	≤4	>4	≥6
Krv u stolici		Može biti prisutna	Prisutna	Prisutna
Puls		Sve normalno	Nedostaju ili su minimalni znaci systemske toksičnosti	>90/min ili
Temperatura				>37.5°C ili
Hemoglobin				<10.5 g/dL ili
SE				>30 mm/h ili
Ili CRP				>30 mg/L

Razlikujemo medikamentno i kirurško liječenje bolesnika s UC-om (12). Medikamentno liječenje nije kurativno, već je usmjereno na postizanje kliničke, endoskopske te histološke remisije bolesti (5) (15) (16). Operacijsko liječenje zauzima važno mjesto u liječenju bolesnika s UC-om. U slučaju kada je ograničen na debelo crijevo, ulcerozni kolitis proktokolektomijom se može kirurški izliječiti (17).

3.2. Suvremena farmakoterapija ulceroznog kolitisa

Lijekovi koje danas koristimo u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom prikazani su u tablici 3.

Izbor medikamentnog liječenja ovisi o proširenosti i težini, odnosno aktivnosti bolesti, trenutnom stanju bolesnika, o bolesnikovu odgovoru na prethodu terapiju te prognozi bolesti (9) (11). U posljednjih nekoliko desetljeća liječenje bolesnika s ulceroznim kolitisom znatno se promijenilo. Cilj liječenja više nije postizanje samo simptomatske remisije već i poboljšanje endoskopskog nalaza te postizanje histološke remisije bolesti. Dok su aminosalicilati i dalje zlatni standard u postizanju i održavanju remisije u bolesnika s blagim do umjerenim UC-om, dolazak bioloških lijekova i malih molekula za peroralnu primjenu obećava učinkovitije i sigurnije dugoročno liječenje bolesnika s umjerenim do teškim UC-om. Trenutno je nekoliko bioloških lijekova i malih molekula za peroralnu primjenu odobreno za liječenje bolesnika s umjerenim do teškim UC-a, a to su: nekoliko TNF- α antagonista, vedolizumab te tofacitinib. Očekuje se da će se u budućnosti među njima naći i ustekinumab, anti-IL12/23 monoklonsko protutijelo koje se trenutno koristi u liječenju CD-a, a koje se pokazalo učinkovitim u postizanju kliničke, endoskopske, i histološke remisije u bolesnika s umjerenim do teškim UC-om u trećoj fazi kliničkog ispitivanja. Dolaskom novih terapijskih opcija, postavlja se pitanje koje je njihovo, ali i koje je mjesto tradicionalnih imunomodulatora, poput azatioprina (AZA), u liječenju bolesnika s UC-om. Nove smjernice ACG-a, ECCO-a i *Toronto Consensusa* podržavaju uporabu tiopurina u bolesnika s UC-om samo: 1) u svrhu održavanje remisije u bolesnika s ograničenom ekstenzijom bolesti i s blagim do umjerenim UC-om, koji su intolerantni ili prestaju reagirati na liječenje aminosalicilatima; 2) u svrhu održavanja remisije u bolesnika s teškim akutnim UC-om u kojih je indukcija remisije postignuta ciklosporinom; te 3) u

kombinaciji s TNF- α antagonistima u bolesnika s umjerenim do teškim UC-om. S vremenom, uloga tiopurina u liječenju bolesnika s UC-om možda postane još ograničenija. U bolesnika s blagim do umjerenim UC-om koji ne reagiraju na primjenu aminosalicilata, postizanje remisije bolesti budesonidom MMX ili sistemskim kortikosteroidom korisna je i djelotvorna opcija. Nadalje, benefit kombinirane terapije azatioprinom i infliximabom primarno je posredovan smanjenjem imunogeničnosti uzrokovane TNF- α antagonistom. Zagovornici napretka monitoringa lijekova smatraju da bi se agresivnom optimizacijom doze mogla ukloniti potreba za pratećom primjenom azatioprina. Uloga tradicionalnih imunomodulatora u bolesnika liječenih novim biološkim lijekovima, kao što su vedolizumab i ustekinumab, te malim molekulama za peroralnu primjenu, ostaje nejasna. Navedeni lijekovi nemaju ili imaju malu imunogeničnost, a ispitivanja nisu jasno pokazala benefit njihove primjene u obliku kombinirane terapije.

Predviđajući tijek događaja u liječenju bolesnika s UC-om tijekom sljedećeg desetljeća, teško je zamisliti da bi tiopurini mogli ponovno imati ključnu ulogu u liječenju bolesnika s UC-om. Učinkovitost terapije ostaje glavna odrednica prilikom odabira terapije u bolesnika s UC-om. Dok je malo dokaza koji podupiru učinkovitost tiopurina kao monoterapije, novi lijekovi u razvoju postižu ne samo kliničku, već endoskopsku i histološku remisiju. Među lijekove u razvoju spadaju: IL23p19 antagonisti, kao brazikumab i mirkizumab, inhibitori Janus kinaze poput filgotiniba i upadacitiniba, zatim ant-integrinski lijekovi poput etrolizumaba, te modulatori sfingozin-1-fosfat receptora kao što su ozanimod te etrasimod. Nadalje, sigurnosni profil postojećih bioloških lijekova, poput vedolizumaba i ustekinumaba, bolji je od sigurnosnog profila tiopurina. U budućnosti, pametna/ciljana isporuka lijeka u upaljeno tkivo crijeva, možda omogući još sigurnije liječenje. Taj koncept već se

koristi u razvoju, na crijeva ograničenih, inhibitora Janus kinaze te ciljane isporuke ciklosporina u debelo crijevo.

Dok se dodatna istraživanja tek trebaju provesti kako bi se razjasnila isplativost novih lijekova u odnosu na tiopurine te dok lijekovi u razvoju nisu stupili na tržište, stručnjaci vjeruju da su trenutni dokazi znak budućeg prestanka uporabe tiopurina u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom (16).

Tablica 3: Lijekovi koji se koriste u liječenju bolesnika s UC-om i njihovi mehanizmi djelovanja. Preuređeno Prema Ahmad i Kumar (2018) (5)

SKUPINA LIJEKOVA	MEHANIZAM DJELOVANJA
AMINOSALICILATI	<p>PROTUUPALNO DJELOVANJE:</p> <ul style="list-style-type: none"> - inhibicija sinteze prostaglandina - hvatanje slobodnih radikala - inhibicija ekspresije NF-κB - PPAR-γ agonisti
KORTIKOSTEROIDI	<p>PROTUUPALNO DJELOVANJE</p> <p>IMUNOSUPRESIVNO DJELOVANJE: inhibicija proliferacije T-limfocita</p>
TIOPURINI	<p>IMUNOSUPRESIVNO DJELOVANJE</p> <ul style="list-style-type: none"> - antimetaboličko djelovanje: inhibicija proliferacije T-limfocita blokiranjem replikacije DNA - proapoptotičko djelovanje: indukcija apoptoze T-limfocita inhibiranjem Rac 1 (mala GTPaza) - inhibicija <i>de novo</i> sinteze purina
INHIBITORI KALCINEURINA	<p>IMUNOSUPRESIVNO DJELOVANJE:</p> <ul style="list-style-type: none"> - inhibicija aktivacije T-limfocita - inhibicija kalcineurina i regulacija naniže (engl. <i>down regulation</i>) ekspresije IL-2
TNF-A ANTAGONISTI	<p>IMUNOSUPRESIVNO DJELOVANJE:</p> <ul style="list-style-type: none"> - blokiranje TNF-α, NF-κB, MAPK i inhibicija aktivacije imunskih stanica - inhibicija otpuštanja proinflamatornih citokina
ANTAGONISTI ADHEZIJSKIH MOLEKULA	<p>IMUNOSUPRESIVNO DJELOVANJE:</p> <ul style="list-style-type: none"> - inhibicija vezanja integrinskih molekula eksprimiranih na T-limfocitima za MAdCAM-1 adhezijsku molekulu na vaskularnom endotelu

3.3. Kirurško liječenje bolesnika s ulceroznim kolitisom

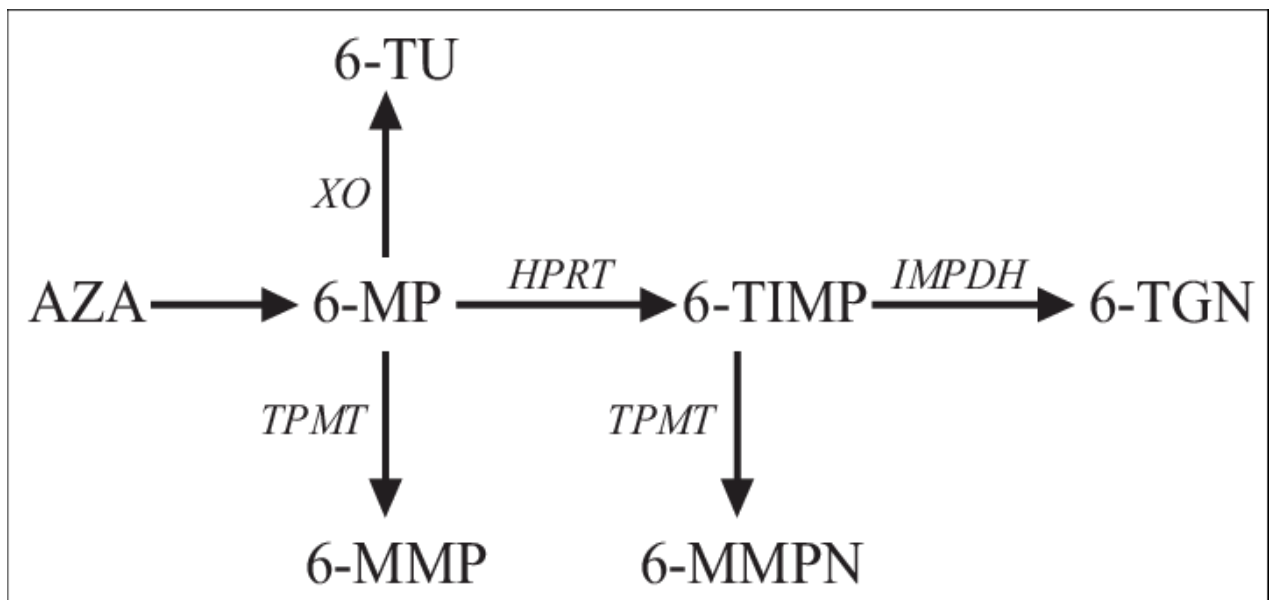
Razlikujemo hitno i elektivno kirurško liječenje bolesnika s ulceroznim kolitisom. Hitna operacija indicirana je u bolesnika sa životno ugrožavajućim komplikacijama, kao što su perforacija, obilno krvarenje ili toksični megakolon (slika 3). Elektivna operacija indicirana je u bolesnika s displazijom ili karcinomom sluznice, intolerancijom na dugotrajnu imunosupresivnu terapiju ili drugu farmakološku terapiju. Najčešća kirurška tehnika koja se koristi u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom je totalna proktokolektomija s ilealnim spremnikom (J-pouch) i analnom anastomozom (IPAA) (9).



Slika 3: Rtg bolesnika sa sekundarnim toksičnim megakolonom uzrokovanim UC-om

4. Metabolizam tiopurina

Azatioprin, konvencionalni tiopurin, predlijek je koji se u organizmu neenzimatskim putem, uz pomoć biogenih tiola, kao što je glutation, pretvara u merkaptopurin. Merkaptopurin se u organizmu može metabolizirati ksantin-oksidadom ili aldehid oksidadom u tiouričnu kiselinu, metilacijom tiopurin S-metiltransferazom u inaktivni metabolit metilmerkaptopurin te dodavanjem amino skupine, hipoksantin fosforiboziltransferazom, u metabolički aktivne tiogvaninske nukleotide. Oni se prilikom replikacije DNA inkorporiraju u novostvoreni lanac te zaustavljaju njenu daljnju replikaciju (18)(19). Osim blokirajući replikaciju DNA, aktivni metaboliti azatioprina smanjuju proliferaciju T-limfocita blokirajući *de novo* sintezu purina koji su potrebni za sintezu DNA i RNA. Također, potiču apoptozu T-limfocita te na taj način dodatno pojačavaju imunosupresivni učinak azatioprina (20).



Slika 4: Metabolizam azatioprina. Witte i Ginsberg (2008) (21)

5. Uloga tiopurin S-metiltransferaze

TPMT je citoplazmatski enzim prisutan u većini stanica ljudskog organizma (22). Metilacija merkaptopurina, odnosno njegova inaktivacija TPMT-om, kritični je korak u metabolizmu tiopurina te se njome smanjuje koncentracija aktivnog TGN-a (18) (23). Geni koji kodiraju TPMT nasljeđuju se autosomno kodominantno te pokazuju genetski polimorfizam (24). Do sada je identificirano 28 alelnih varijanti gena za TPMT (25). One nastaju kao posljedica mutacija (24). Učestalost pojedinog oblika gena za TPMT razlikuje se među pojedinim etničkim skupinama (18). TPMT1 predstavlja divlji/zdravi alel koji je povezan s normalnom aktivnošću TPMT-a. 86-97% bolesnika su homozigoti za TPMT1 alel te imaju normalnu aktivnost TPMT-a i mali rizik od razvoja mijelosupresije (23). 3-4% bolesnika su heterozigoti, odnosno posjeduju jednu nefunkcionalnu alelnu varijantu gena za TPMT (26). Takve osobe imaju 50% smanjenu aktivnost TPMT (18). Prevalencija homozigornih bolesnika koji imaju dvije nefunkcionalne alelne varijante gena za TPMT je niska (otprilike 1 na 178 do 1 na 3736 bolesnika). Takvi bolesnici imaju malu ili nikakvu aktivnost TPMT (23) (26). Većina slučajeva potpunog nedostatka aktivnosti TPMT povezana je sa sljedeće tri alelne varijante: TPMT 2, TPMT 3A, TPMT 3C (18). Oni čine 90% nefunkcionalnih alelnih varijanti (23). Osobe s potpunim nedostatkom aktivnosti TPMT, a koje prime standardne doze azatioprina ili merkaptopurina, imaju znatno veće šanse razviti potencijalno fatalnu mijelosupresiju zbog visokih razina TGN-a (18) (23). Nad bolesnicima s IBD-om koji su imali potpuni nedostatak TPMT-a provedeno je malo istraživanje. Ono je pokazalo da su svi bolesnici koji su primali dozu u iznosu od oko 10% standardne doze, dobro su je i tolerirali. Heterozigotni nositelji mutacije TPMT gena, nakon primjene tiopurina, također imaju povišeni rizik od razvoja toksičnih pojava, što se može spriječiti davanjem 50% standardne doze.

Zbog svega navedenog preporučuje se, prije započinjanja terapije, odrediti razinu aktivnosti TPMT-a te prema njoj prilagoditi dozu (18). Fenotipizacija, odnosno određivanje aktivnosti TPMT-a preferira se nad genotipizacijom jer se enzimatskim esejom otkrivaju svi bolesnici s manjkom aktivnosti TPMT-a, a ne samo oni s promijenjenim genotipom (18) (23). To je važno jer i neki drugi čimbenici, kao što je starost eritrocita, utječu na pojavu nesklada između genotipa i fenotipa.

U bolesnika s izrazito visokom razinom aktivnosti TPMT-a (>40 pmol/mg Hb/h), koja je uzrokovana poremećenim metabolizmom tiopurina, merkaptopurin se preferentno metabolizira u metilmerkaptopurin. Rezultat je toga smanjena koncentracija TGN-a i posljedično slabiji klinički odgovor te blaže nuspojave. Ova pojava preferentnog metaboliziranja merkaptopurina u MeMP naziva se hipermetilacija (18).

Valja naglasiti kako je genetski polimorfizam uzrok svega 10% toksičnosti izazvane tiopurinima. Također, 50-75% bolesnika koji razviju leukopeniju imaju normalnu aktivnost TPMT-a, a samo 3% osoba s hipermetilacijom ima izrazito visoku aktivnost TPMT-a. Zbog navedenog, mjerenje koncentracije tiogvanina pruža sumarnu sliku utjecaja epigenetskih i genetskih čimbenika na metabolizam tiopurina te, zajedno s mjerenjem koncentracije MeMP-a, predstavlja najbolji način praćenja terapijskog učinka primjenjenog tiopurina (18).

6. Klinički učinci tiopurina

Azatioprin i 6-merkaptopurin dva su najčešće korištena tiopurina u liječenju bolesnika s IBD-om. Radi sporog početka djelovanja, uočljivi učinci njihova djelovanja nastaju tek nakon 12-17 tjedana njihove kontinuirane primjene (Prefontaine i suradnici, 2010). Zbog navedenog, tiopurini imaju specifičnu ulogu liječenju bolesnika s IBD-om, a to je održavanje dugotrajne remisije. Biološki lijekovi nude prednost u smislu sigurnosti i učinkovitosti, a visoki troškovi i potreba za parenteralnom primjenom ograničavaju njihovu kliničku uporabu. Naširoko korišteni tiopurini često su povezani sa štetnim nuspojavama i neuspjehom liječenja. Razumijevanje farmakogenetike metaboličkog puta tiopurina može pomoći liječnicima u individualnoj optimizaciji terapije te posljedičnom postizanju veće sigurnosti i učinkovitosti liječenja (3). Većina bolničkih centara razmatra prestanak liječenja tiopurinima nakon 5 godina trajanja kliničke remisije. Liječenje u trajanju dužem od 4 godine pokazalo se čimbenikom rizika za pojavu nemelanomskih karcinoma kože ili limfoma, posebice u bolesnika starijih od 50 godina. Također, postoji povezanost između dugotrajne uporabe tiopurina, posebice tiogvanina, i nodularne hiperplazije. Valja napomenuti da postoje dobri sigurnosni podatci o primjeni tiopurina u trudnoći i u razdoblju oko začeća za žene i muškarce, te je njihova uporaba podržana od strane europskih smjernica. Ne postoje sigurnosni podatci o primjeni alopurinola tijekom trudnoće te se preporučuje izbjegavanje njegove primjene tijekom trudnoće (18).

6.1. Učinkovitost tiopurina kao monoterapije u liječenju bolesnika s UC-om

6.1.1. Učinkovitost u indukciji remisije

Malo je podataka dobivenih randomiziranim kontroliranim kliničkim pokusima koji pokazuju učinkovitost tiopurina kao monoterapije u indukciji remisije bolesti. Ardizzone i suradnici proveli su randomizirani kontrolirani klinički pokus uspoređujući učinkovitost azatioprina u odnosu na aminosalicilate u postizanju indukcije remisije u bolesnika sa kortikosteroid-ovisnim UC-om. Tijekom istraživanja svi bolesnici imali su klinički i endoskopski aktivni UC. Znatno više bolesnika liječenih azatioprinom, u usporedbi s mesalazinom, postiglo je remisiju bez primjene kortikosteroida te endoskopsku remisiju. Drugi autori dobili su oprečne rezultate. Gisbert i suradnici proveli su sustavni pregled literature i metaanalizu bolesnika s kortikosteroid-ovisnim ili refraktornim UC-om. Studijama nije utvrđena razlika u učinkovitosti između tioprina i aminosalicilata, odnosno tiopurina i placeba u indukciji remisije. Obije usporedbe bile su limitirane malim brojem bolesnika (16).

6.1.2. Učinkovitost u održavanju remisije

Iako nije učinkovit kao monoterapija u postizanju remisije bolesti, malo je više dokaza koji podupiru uporabu tiopurina kao terapije izbora u svrhu održavanja remisije u bolesnika koji ne reagiraju ili prestanu reagirati na aminosalicilate, ili u bolesnika s kortikosteroid-ovisnim UC-om. Timmer i suradnici proveli su sustavni pregled literature kojim je utvrđeno da je učinkovitost azatioprina znatno veća od učinkovitosti placeba u održavanju remisije bez primjene kortikosteroida. Također, nekoliko pojedinačnih randomiziranih kontroliranih kliničkih pokusa pokazalo je da je učinkovitost tiopurina veća od učinkovitosti mesalazina u održavanju remisije. Prema

retrospektivnom kohortnom istraživanju, kojeg su proveli Eriksson i suradnici, bolesnici koji su tolerirali tiopurine više od 12 mjeseci, imali su manji rizik od kolektomije, hospitalizacija i progresije bolesti.

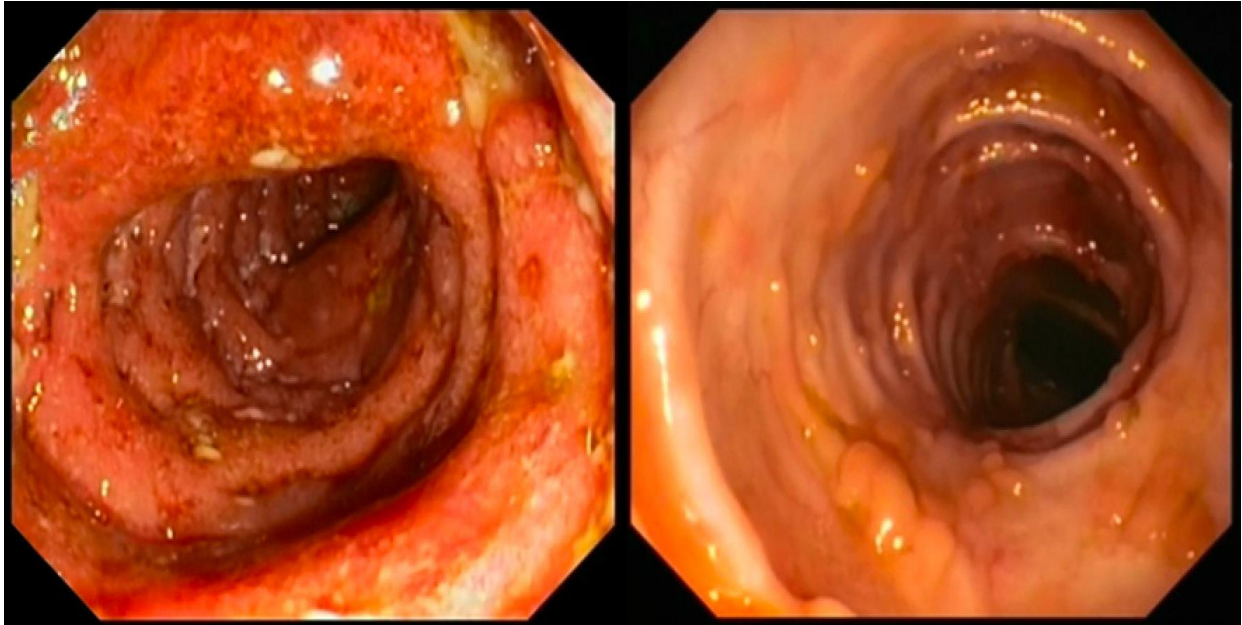
Prestanak korištenja azatioprina povezuje se s visokom stopom recidiva bolesti. Prema istraživanju Hawthorne i suradnika, značajno je veći broj bolesnika, kojima se prestao davati azatioprin, razvio relaps bolesti tijekom prve godine nakon prestanka primjene u odnosu na bolesnike koje se nastavilo liječiti azatioprinom. Rezultate ovog istraživanja potvrdili su rezultatima svojeg istraživanja Cassinotti i suradnici, prikazujući kumulativnu stopu relapsa povezanu s prestankom davanja azatioprina nakon jedne, tri i pet godina. Prema studiji provedenoj među Šveđanima, dugoročnim toleriranjem tiopurina mogu se postići određeni klinički ishodi, kao što su: smanjena potreba za korištenjem TNF- α antagonista te smanjen rizik od kolektomije, potrebe za hospitalizacijom i progresije bolesti. Autori smatraju da ovi podatci govore u prilog korištenja tiopurina kao terapije održavanja remisije (16).

6.2. Učinkovitost tiopurina u sklopu kombinirane terapije zajedno s infliximabom

Randomizirani kontrolirani klinički pokus, kojeg su proveli Pannacione i suradnici 2014. godine u Kanadi, pokazao je da je primjena kombinacije intravenski primjenjenog infliksimaba i peroralnog azatioprina znatno učinkovitija u održavanje remisije bez primjene kortikosteroida u bolesnika s umjerenim do teškim UC-om, nego primjena azatioprina ili infliximaba samostalno. Učinkovitost kombinirane terapije u odnosu na njene štetne učinke potrebno je tek procijeniti. Također, njime je utvrđeno da primjena samo infliksimaba nije znatno učinkovitija od primjene samo

azatioprina u održavanju remisije bez primjene kortikosteroida. Primjena kombinirane terapije ili samo infliksimaba pokazala se učinkovitijom od samog azatioprina u postizanju cijeljenja mukoze. Bolesnici koji su primali azatioprin u obliku monoterapije u većem su postotku razvili hepatotoksične nuspojave od bolesnika liječenih kombiniranom terapijom ili samo infliksimabom. Zbog nedostataka u provedbi samog istraživanja, autori preporučuju samo zaključke dobivene usporedbom kombinirane terapije i azatioprina samostalno smatrati statistički značajnima. Ostale zaključke treba uzeti s oprezom (27).

Sve više dokaza podupire selektivno dodavanje imunosupresiva TNF- α antagonistima u bolesnika koji prestaju odgovarati na primjenu TNF- α antagonista, umjesto mijenjanja biološke terapije. Ovakav način liječenja pokazao se potencijalno učinkovitim u smanjenju cirkulirajućih protutijela i ponovnoj uspostavi kliničkog odgovora. Macaluso i suradnici proveli su istraživanje na 46 ispitanika s UC-om koji su prestali reagirati na primjenu biološke terapije te su im selektivno dodani imunosupresivi. Nakon dvije godine, na kraju praćenja bolesnika, petero ih je postiglo remisiju bez primjene kortikosteroida, a dvoje povratilo klinički odgovor. Zbog navedenog, ovaj način liječenja može biti učinkovit u uspostavi naknadnog odgovora u liječenju biološkim lijekovima, štedeći alternativne biološke terapijske opcije za kasnije u tijeku bolesti (16).



Slika 5: Endoskopski prikaz bolesnika s umjerenim do teškim ekstenzivnim kolitisom prije i nakon liječenja kombiniranom terapijom

6.3. Monitoring metabolita i optimizacija kliničkog odgovora

Kao što sam već napomenuo, mjerenje koncentracije tiogvanina pruža sumarnu sliku utjecaja epigenetskih i genetskih čimbenika na metabolizam tiopurina te, zajedno s mjerenjem koncentracije MeMP-a, predstavlja najbolji način praćenja terapijskog učinka primjenjenog tiopurina. Mjerenje koncentracije tiogvanina vrši se u svih bolesnika sa simptomima ili aktivnom bolešću. Mjerenje se vrši 4 tjedna nakon započinjanja terapije tiopurinima ili nakon mijenjanja doze. Meta analizom utvrđeno je da je terapijski opseg tiogvanina između $235 \text{ pmol}/8 \times 10^8$ i $450 \text{ pmol}/8 \times 10^8$ u korelaciji s dobrim kliničkim odgovorom. Također, ishod liječenja poboljšava se u oko 90% bolesnika kojima se, u svrhu optimizacije doziranja, pratila koncentracija tiogvanina u eritrocitima, za razliku od 33% kojima nije praćena koncentracija.

Ako je koncentracija tiogvanina ispod terapijske razine, povišenjem doze trebalo bi se postići njihovo povišenje do unutar terapijskog raspona. Ako se razvije hipermetilacija, i tiogvanini su ispod terapijske razine, preporuča se prebacivanje na LDTA terapiju ili podjela doze. Obrazloženje za podjelu doze jeste u tome što dijeljenjem doze razina tiopurina ostaje ispod optimalnog supstratnog afiniteta za TPMT (18).

7. Neželjeni učinci tiopurina

Sa svrhom uklanjanja neželjenih učinaka tiopurina, razvijeni su različiti protokoli liječenja bolesnika s ulceroznim kolitisom, onda kada se jave nuspojave na njihovu primjenu. Primjenom LDTA terapije postiže se remisija neželjenih učinaka tiopurina, osim pankreatitisa, u 78% bolesnika. LDTA terapijom smanjuje se razina MeMP-a, dok se razina TGN-a povisuje do unutar terapijskog opsega (18).

7.1. Neželjeni učinci u gastrointestinalnom sutavu

Mučnina se često javlja pri primjeni tiopurina. Ova nuspojava može se ublažiti promjenom vremena/rasporeda primjene doze: primjenom umjesto ujutro, popodne ili navečer. Primjenom merkaptopurina može se spriječiti mučnina uzrokovana azatioprinom. Također, postupnim povisivanjem doze tiopurina tijekom 2-4 tjedna, umjesto primjenom maksimalne doze odmah na početku te primjenom LDTA terapije, može se spriječiti pojava mučnine u dijela bolesnika (18).

7.2. Neželjeni učinci na koštanu srž

Mijelosupresija se povezuje s niskom aktivnošću TPMT-a i s razinom MeMP-a >11 450 pmol/ 8×10^8 eritrocita. Kao i u pojave hepatotoksičnosti i hipermetilacije, u pojave mijelosupresije primjenjuje se LDTA terapija. Ako se pojavi leukopenija uz odsutnost hipermetilacije, potrebno je promijenti dozu prema parametrima krvne slike (18).

7.3. Hepatotoksičnost

4% bolesnika liječenih tiopurinima razvit će s tiopurinima povezanu hepatotoksičnost. Ako se pojavi hepatotoksičnost, primjenu tiopurina treba obustaviti sve dok se testovi jetrene funkcije ne normaliziraju, kada treba započeti s primjenom LDTA terapije. Razina MeMP-a $>5700 \text{ pmol}/8 \times 10^8$ eritrocita trostruko povisuje rizik od nastanka hepatotoksičnosti. Dio bolesnika razvije hepatotoksičnost i u odsutnosti hipermetilacije. Pojava hepatotoksičnosti se, u većine bolesnika, može spriječiti primjenom LDTA terapije (18).

7.4. Pankreatitis

Nakon pojave pankreatitisa uzrokovanog konvencionalnim tiopurinima, ne preporučuje se ponovna primjena konvencionalnih tiopurina ili njihova zamjena merkaptopurinima, zbog povećanog rizika od ponovnog nastanka pankreatitisa. Primjenom tiogvanina, alternativnog tiopurina, kao adekvatne zamjenske terapije primjeni azatioprina i merkaptopurina, u dozi od 20-40 mg, sprječava se ponovna pojava pankreatitisa u 79% bolesnika tijekom godine dana (18). Prema podacima istraživanja koje je uključivalo 510 bolesnika s IBD-om, njih 37, odnosno 7,3% razvilo je akutni pankreatitis te je liječenje azatioprinom zbog toga prekinuto (28).

8. Zaključak

Unatoč pretpostavkama stručnjaka da će, zbog razvoja učinkovitijih i sigurnijih lijekova, uloga tiopurina u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom biti još ograničenija, azatioprin i dalje ostaje nezaobilazan lijek u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom. Praćenjem metabolita tiopurina, uz mjerenje aktivnosti TPMT-a, uspješno se postiže optimizacija terapije. Time se poboljšava klinička djelotvornost liječenja te se sprječava neuspjeh liječenja uzrokovan štetnim nuspojavama azatioprina, kao što je pankreatitis te je to klasični primjer benefita personalizirane medicine.

9. Zahvale

Prije svega, zahvaljujem svom mentoru prof. dr. sc. Nevenu Ljubičiću na dostupnosti, pristupačnosti te stručnoj i nesebičnoj pomoći pri izradi ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem svim prijateljima i kolegama koji su mi bili *vjetar u leđa* tijekom studiranja. Osim na podršci i pomoći, zahvalan sam im i na svim lijepim trenutcima koje smo zajedno proživjeli.

Na kraju, posebnu zahvalnost želim izraziti svim članovima svoje obitelji na strpljenju, podršci i razumijevanju.

10. Literatura

1. Kaur A, Gogolidou P. Ulcerative colitis: Understanding its cellular pathology could provide insights into novel therapies. *J Inflamm* 2020;17(15):1.
2. Seyedian SS, Nokhostin F, Malamir MD. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *J med life* 2019;12(2):113-22.
3. Lim SZ, Chua EW. Revisiting the role of thiopurines in inflammatory bowel disease through pharmacogenomics and use of novel methods for therapeutic drug monitoring. *Front Pharmacol* 2018;9:1107.
4. Yun J, Xu CT, Pan BR. Epidemiology and gene markers of ulcerative colitis in the Chinese. *World J. Gastroenterol* 2009;15(7):788-803.
5. Ahmad H, Kumar VL. Pharmacotherapy of ulcerative colitis - Current status and emerging trends. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2018;29(6):581-92.
6. Jairath V, Feagan BG. Global burden of inflammatory bowel disease. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020;5(1):2-3.
7. Despalatović BR, Bratanić A, Radić M, Jurišić Z, Tonkić A. Epidemiological trends of inflammatory bowel disease (IBD) in Split-Dalmatia County, Croatia from 2006 to 2014. *Eur J Intern Med* 2017;46(Suppl):S17-9.
8. Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel J-F. Seminar Ulcerative colitis. *Lancet* 2017;389(10080):1756-70.
9. Baumgart DC. The Diagnosis and Treatment of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Dtsch Aerzteblatt Int* 2009;106(8):123-33.

10. Qin X. Why is damage limited to the mucosa in ulcerative colitis but transmural in Crohn's disease?. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2013;4(3):63-4.
11. Rubin DT, Ananthakrishnan AN, Siegel CA, Sauer BG, Long MD. ACG Clinical Guideline: Ulcerative Colitis in Adults. *Am J Gastroenterol* 2019;114(3):384-413.
12. Vucelić B, Čuković-Čavka S. Upalne bolesti crijeva. *Medicus* 2006;15(1):53-62.
13. Rogler G, Vavricka S, Schoepfer A, Lakatos PL. Mucosal healing and deep remission: What does it mean?. *World J Gastroenterol* 2013;19(43):7552-60.
14. Katičić M. Indeksi aktivnosti upalnih bolesti crijeva. *Acta Med Croatica* 2013;67(2):93-110.
15. Vucelic B, Cukovic-Cavka S, Banic M, Bilic A, Borzan V, Duvnjak M, i sur. Hrvatski konsenzus o liječenju upalnih bolesti crijeva biološkom terapijom. *Acta Med Croatica* 2013;67(2):75-87.
16. Chhibba T, Ma C. Is there room for immunomodulators in ulcerative colitis?. *Expert Opin Biol Ther* 2020;20(4):379-90.
17. Kühn F, Klar E. Surgical Principles in the Treatment of Ulcerative Colitis. *Viszeralmedizin* 2015;31(4):246-50.
18. Warner B, Johnston E, Arenas-Hernandez M, Marinaki A, Irving P, Sanderson J. A practical guide to thiopurine prescribing and monitoring in IBD. *Frontline Gastroenterol* 2018;9(1):10-5.
19. Misdaq M, Ziegler S, Von Ahsen N, Oellerich M, Asif AR. Thiopurines induce oxidative stress in T-lymphocytes: A proteomic approach. *Mediators Inflamm* 2015;2015:434825.

20. Maltzman JS, Koretzky GA. Azathioprine: Old drug, new actions. *J Clin Investig* 2003;111(8):1122-4.
21. Witte TN, Ginsberg AL. Use of allopurinol with low-dose 6-mercaptopurine in inflammatory bowel disease to achieve optimal active metabolite levels: A review of four cases and the literature. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2008;22(2):181-5.
22. Katara P, Kuntal H. TPMT Polymorphism: When Shield Becomes Weakness. *Interdiscip Sci* 2016;8(2):150-5.
23. Dean L, Kane M. Mercaptopurine Therapy and TPMT and NUDT15 Genotype. U: Pratt VM, Scott SA, Pirmohamed M, Esquivel B, Kane MS, Kattman BL i sur., ur. *Medical Genetics Summaries* [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012 - [ažurirano 26.10.2020.; pristupljeno 20.8.2021.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK100660/>
24. Srimartpirom S, Tassaneeyakul W, Kukongviriyapan V, Tassaneeyakul W. Thiopurine S-methyltransferase polymorphism in the Thai population. *Br J Clin Pharmacol* 2004;58(1):66-70.
25. Wang L, Pelleymounter L, Weinshilboum R, Johnson JA, Hebert JM, Altman RB, i sur. Very important pharmacogene summary: Thiopurine S-methyltransferase. *Pharmacogenet Genomics* 2010;20(6):401-5.
26. Nguyen CM, Mendes MAS, Ma JD. Thiopurine methyltransferase (TPMT) genotyping to predict myelosuppression risk. *PLoS Curr* 2011;3:RRN1236.
27. Panaccione R, Ghosh S, Middleton S, Márquez JR, Scott BB, Flint L, i sur.

Combination therapy with infliximab and azathioprine is superior to monotherapy with either agent in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2014;146(2 Suppl 3):S392-400.

28. Teich N, Mohl W, Bokemeyer B, Bündgens B, Büning J, Mielke S, i sur. Azathioprine-induced acute pancreatitis in patients with inflammatory bowel diseases-a prospective study on incidence and severity. *J Crohn's Colitis* 2016;10(1):61-8.

11. Životopis

Rođen je 26. rujna 1996. godine u Zagrebu. U Zaprešiću je završio: Osnovnu školu Ljudevita Gaja, opću gimnaziju u Srednjoj školi bana Josipa Jelačića te Srednju glazbenu školu Zlatka Balokovića, gdje je maturirao na gitari. Tijekom osnovne škole 7 godina je trenirao rukomet. Također, tijekom srednje i osnovne škole sudjelovao je na županijskim natjecanjima iz biologije te poludržavnim iz odbojke. 2012. godine bio je dobitnik stipendije grada Zaprešića u kategoriji učenika srednjeg glazbenog usmjerenja. Medicinski fakultet upisao je 2015. godine. 2018. godine bio je član vokalnog ansambla *Husar-Tomčić*, a u razdoblju od 2019. do 2021. bio je član pjevačkog zbora Medicinskog fakulteta *Lege artis*. Aktivno se služi engleskim jezikom, poznaje njemački (posjeduje DSD certifikat) te talijanski jezik (završio je jednogodišnji tečaj te ga je jednu godinu učio u srednjoj školi).