

# Prevalencija mukoznog cijeljenja u bolesnika s Crohnovom bolešću liječenih azatioprinom

---

**Dolić, Andro**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*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/urn:nbn:hr:105:868241>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-04**



*Repository / Repozitorij:*

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Andro Dolić**

**PREVALENCIJA MUKOZNOG CIJELJENJA U BOLESNIKA  
S CROHNOVOM BOLESTI LIJEČENIH AZATIOPRINOM**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2020.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod vodstvom prof. dr. sc. Silvije Čuković-Čavke i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019/2020.

## POPIS KRATICA KORIŠTENIH U RADU

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

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

MH – mukozno cijeljenje (engl. *mucosal healing*)

AZA – azatioprin (engl. *azathioprine*)

SAD – Sjedinjene Američke Države

CRP – C-reaktivni protein

EGD – ezofagogastroduodenoskopija

MR – magnetska rezonanca (engl. *magnetic resonance*)

CT – kompjutorizirana tomografija (engl. *computed tomography*)

IUS – intestinalni ultrazvuk (engl. *intestinal ultrasound*)

DBE – enteroskopija dvostrukim balonom (engl. *double-balloon enteroscopy*)

ECCO – engl. *European Crohn's and Colitis Organisation*

CDAI – indeks aktivnosti Crohnove bolesti (engl. *Crohn's Disease Activity Index*)

TNF – faktor tumorske nekroze (engl. *tumor necrosis factor*)

HIV – virus humane imunodeficijencije (engl. *Human Immunodeficiency virus*)

TPMT – tiopurin S-metiltransferaza (engl. *thiopurine S-methyltransferase*)

6-TGN – 6-tiogvanin (engl. *6-thioguanine*)

6-MMP – 6-metil merkaptopurin (engl. *6-methyl mercaptopurine*)

HBI – Harvey-Bradshaw indeks (engl. *Harvey-Bradshaw index*)

CDEIS – engl. *Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity*

SES-CD – engl. *Simplified Endoscopic Score for Crohn's Disease*

MaRIA – engl. *Magnetic Resonance Index of Activity*

GETAID – fr. *Groupe d'Etude Thérapeutique des Affections Inflammatoires Digestives*

OR – omjer šansi (engl. *odds ratio*)

95% CI – 95%-tni interval pouzdanosti (engl. *95% confidence interval*)

# SADRŽAJ

<b>SADRŽAJ</b> .....	
1. SAŽETAK .....	
2. Summary .....	
3. Uvod.....	1
3.1. Crohnova bolest.....	1
3.1.1. Klinička slika Crohnove bolesti .....	2
3.1.2. Dijagnostika Crohnove bolesti .....	3
3.1.3. Liječenje Crohnove bolesti.....	4
3.1.4. Praćenje bolesnika s Crohnovom bolesti.....	9
4. Mukozno cijeljenje.....	12
5. Uloga azatioprina u liječenju Crohnove bolesti .....	14
5.1. Učinkovitost azatioprina u liječenju Crohnove bolesti.....	14
5.2. Rezultati dosadašnjih istraživanja o postizanju mukoznog cijeljenja u bolesnika s Crohnovom bolesti liječenih azatioprinom.....	14
6. RASPRAVA .....	22
7. ZAKLJUČAK .....	24
8. ZAHVALE.....	25
9. LITERATURA .....	26
10. ŽIVOTOPIS .....	33

# 1. SAŽETAK

Crohnova bolest je upalna crijevna bolest za koju je karakterističan prekomjerni upalni odgovor koji zahvaća cijelu debljinu stijenke crijeva uz diskontinuirano zahvaćanje probavne cijevi. Mukozno cijeljenje, odnosno duboka remisija, označava sluznicu bez znakova upale ili ulceracija. Endoskopske pretrage su ključne u procjeni mukoznog cijeljenja, no još uvijek ne postoje egzaktni kriteriji za definiranje mukoznog cijeljenja. Mukozno cijeljenje je povezano s manjom potrebom za hospitalizacijama i kirurškim zahvatima u bolesnika te povoljnijim tijekom bolesti. Azatioprin ima dugu tradiciju primjene u liječenju Crohnove bolesti te ga smjernice preporučuju kao lijek za održavanje remisije u umjerenom do teškom obliku bolesti. Za optimizaciju liječenja azatioprinom koriste se metode mjerenja koncentracije njegovih metabolita te genotipizacija tiopurin-metiltransferaze koje omogućuju točnije doziranje lijeka i sigurniji odabir bolesnika. Prvi radovi koji su uočili pojavu mukoznog cijeljenja u bolesnika liječenih azatioprinom objavljeni su devedesetih godina, a sve do danas traju istraživanja koja se bave ulogom azatioprina u mukoznom cijeljenju. Prema rezultatima dosadašnjih istraživanja prevalencija mukoznog cijeljenja u bolesnika liječenih azatioprinom kretala se od 16,5 do 83% što ukazuje na velike razlike u dizajnu između pojedinih istraživanja. Azatioprin se pokazao kao relativno uspješan lijek za postizanje mukoznog cijeljenja u bolesnika koji ga toleriraju i koji su ga počeli uzimati ranije u tijeku bolesti. Dokazana je i njegova korist u kombinaciji s anti-TNF protutijelima zbog smanjenja imunogeničnosti biološke molekule i posljedično postizanja većih serumskih koncentracija lijeka čime se može postići mukozno cijeljenje. Dosadašnjim istraživanjima na temu postizanja mukoznog cijeljenja pomoću azatioprina nedostaje individualizirani pristup bolesniku u doziranju lijeka i standardizirani pristup praćenju bolesnika. Potrebna su dodatna istraživanja koja bi primjenjivala navedene strategije, a koje bi u konačnici mogle dovesti do optimizacije liječenja koja bi moguće uključivala i više prevalencije mukoznog cijeljenja.

**Ključne riječi :** Crohnova bolest, mukozno cijeljenje, azatioprin

## **2. Summary**

### **Prevalence of mucosal healing in patients with Crohn's disease treated with azathioprine**

Crohn's disease is inflammatory bowel disease characterized by excessive inflammatory response that affects the full thickness of intestinal wall and skip lesions of the intestinal tract. Mucosal healing or deep remission, means mucosa with no signs of inflammation or ulcerations. Endoscopic procedures are crucial in the assessment of mucosal healing but there are still no exact criteria for defining mucosal healing. It is associated with fewer hospitalisations and surgeries in patients and a more favorable disease course of the disease. Azathioprine has a long tradition of use in the treatment of Crohn's disease, and the guidelines recommend it as a drug for the maintenance of remission in patients with moderate to severe disease. To optimize azathioprine treatment, methods for measuring the concentrations of its metabolites and genotyping thiopurine methyltransferase are used, which allow more precise drug dosing and safer patient selection. The first studies noticing the occurrence of mucosal healing in patients treated with azathioprine were published in the 1990s, and research on the role of azathioprine in mucosal healing continues to this day. According to the results of previous studies, the prevalence of mucosal healing in patients treated with azathioprine ranged from 16.5 to 83%, which indicates large differences in design between studies. Azathioprine has been shown to be a relatively successful drug for achieving mucosal healing in patients who tolerate it and who have started taking it earlier in the course of the disease. Its benefit in combination with anti-TNF antibodies has also been proven in reducing the immunogenicity of the biological molecule and consequently achievement of the higher serum drug concentrations, which ultimately enhances mucosal healing. Previous research focused on the achievement of mucosal healing using azathioprine lacks an individualized approach to the patient in drug dosing and a standardized approach to patient monitoring. Additional research is needed to apply these strategies, which could ultimately lead to treatment optimization that could possibly include a higher prevalence of mucosal healing.

**Key words:** Crohn's disease, mucosal healing, azathioprine



### 3. Uvod

#### 3.1. Crohnova bolest

Crohnova bolest (CD) je kronična upalna bolest probavnog sustava i zajedno s ulceroznim kolitisom pripada u skupinu upalnih bolesti crijeva (IBD). Za razliku od ulceroznog kolitisa kod kojeg je upala lokacijom ograničena na debelo crijevo i sluznicu stijenke, CD može zahvatiti čitavu probavnu cijev, od usta do anusa i to transmuralno. Karakteristično je za CD da se upala širi diskontinuirano, u obliku preskačućih („*skip*“) lezija koje mogu obuhvatiti više različitih lokacija odjednom.<sup>1</sup> Montrealska klasifikacija razlikuje CD u ileumu (L1), kolonu (L2), ileumu i kolonu zajedno (L3) te u gornjem dijelu probavne cijevi (L4).<sup>2</sup>

Incidencija CD je u porastu te u Europi varira između 0.5 i 10.6 slučajeva na 100,000 osoba-godina te se s obzirom na prevalenciju pretpostavlja se da u Europi ima 1.6 milijuna oboljelih.<sup>3</sup> Premda je incidencija veća u sjevernim i zapadnim dijelovima Europe (Skandinavija, Ujedinjeno Kraljevstvo) uz evidentan istok-zapad gradijent, bilježi se porast i u istočnoj Europi.<sup>4</sup> U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) zabilježena je prevalencija od 58 slučajeva na 100.000 djece te u odraslih 241 slučaj na 100.000 stanovnika, što u konačnici znači 565 tisuća slučajeva CD u toj državi.<sup>5</sup> Pojava bolesti u odnosu na dob ima bimodalnu distribuciju, tj. dva vrška u dobnoj strukturi. Prvi vršak se nalazi između 20-e i 30-e godina, a drugi u osoba starih između 60 i 80 godina. Žene češće obolijevaju od muškaraca.<sup>6</sup>

U osnovi upalnog zbivanja u CD poremećen je upalni odgovor na mikrofloru u probavnoj cijevi koja je i manje kompleksnosti i raznolikosti.<sup>7</sup> Tako su pojedine studije zamijetile porast u broju nekih bakterija (*Bacteroides* spp., Enterobacteriaceae) i redukciju broja nekih drugih ( *Faecalibacterium prausnitzii* i *Clostridium coccoides*) što potvrđuje neravnotežu u mikroflori bolesnika u odnosu na zdrave pojedince, s otvorenim pitanjem je li takva slika kod bolesnika zapravo uzrok ili posljedica bolesti.<sup>8</sup> Kao posljedica neprimjerenog upalnog odgovora nastaju patološke promjene u crijevu. Makroskopski mogu biti prisutni aftozne ulceracije, izgled sluznice poput kaldrme te fistule koje nastanu između dijelova probavne cijevi (entero-enteralne) ili između crijeva i mokraćnog ili spolnog sustava (enterovezikalne, enterovaginalne). U histološkoj slici nalaze se kriptalni apscesi, zahvaćenost svih slojeva crijevnog stijenke, limfocitni infiltrati i nekazeozni granulomi.<sup>9</sup> Iako se točan uzrok još ne zna, identificirani su brojni čimbenici rizika za razvoj CD. Potvrđeno je češće javljanje bolesti u obiteljima s genetskim opterećenjem, pa dijagnoza bolesti kod roditelja, sestre ili brata

nosi rizik za bolest, kao i za raniju pojavu bolesti.<sup>10</sup> Uz već ranije spomenuti geografski gradijent, razlike u incidenciji su registrirane i u nekim rasama i etničkim skupinama pa je, primjerice, veća incidencija u Aškenazi Židova.<sup>11</sup> Smatra se da zapadnjački način života pridonosi riziku za razvoj bolesti budući da prehrambene navike takvog života s tendencijom prema hrani bogatoj ugljikohidratima, nezasićenim masnim kiselinama i mesom, mogu pridonijeti povišenom riziku za razvoj CD.<sup>12</sup> Uporaba nesteroidnih protuupalnih lijekova u većim dozama ima također registriranu povećanu povezanost s nastankom upalne bolesti crijeva.<sup>13</sup> Najbolje proučeni okolišni čimbenik je pušenje, a analize su pokazale da je važan za razvoj CD,<sup>14</sup> i kod bivših i kod trenutnih pušača.<sup>15</sup>

### **3.1.1. Klinička slika Crohnove bolesti**

Crohnova bolest se očituje na različite načine. Moguć je širok spektar gastrointestinalnih simptoma kojima se pridružuju opći simptomi koji često upućuju na težinu stanja. Osim njih, postoji više ekstraintestinalnih simptoma i znakova karakterističnih za CD. Bolest najčešće ima kronični tijek, ali moguć je i akutni nastup simptoma. Bol u abdomenu, proljev, krvarenja iz rektuma, povraćanje, povišena tjelesna temperatura, umor i gubitak na tjelesnoj masi su najčešće manifestacije.<sup>16</sup> Obično nisu svi simptomi prisutni zajedno, već je često samo jedan od njih evidentan.<sup>17</sup> Ponekad se bolest dijagnosticira u okviru kliničkog zbrinjavanja akutnog apendicitisa apendektomijom kada kirurg otkrije upalu terminalnog ileuma. Nešto manje od 30% bolesnika se može prezentirati opstruktivnim simptomima zbog crijevnih striktura.<sup>18</sup> One nastaju zbog transmuralnog upalnog procesa u stijenci crijeva koje vodi do zadebljanja stijenke i suženja lumena te u konačnici do opstrukcije crijeva. Kod CD javlja se i perianalna simptomatologija (fistule, apscesi). U oko trećine bolesnika perianalni simptomi prethode crijevnim, a smatra se da oko 75% bolesnika razvija perianalni oblik bolesti unutar 10 godina.<sup>19</sup> Gornji gastrointestinalni sustav je zahvaćen u oko jedne desetine bolesnika prema nekim studijama. U pravilu je zahvaćenost sinhrona s donjim dijelom probavne cijevi. Simptomi su nespecifični, a uključuju bol u prsima, regurgitaciju i žgaravicu. U težim slučajevima dolazi do disfagije, odinofagije ili povraćanja.<sup>20</sup>

Od ekstraintestinalnih simptoma i znakova, uz one opće poput vrućice, gubitka na tjelesnoj masi, noćnog znojenja, nalaze se i bolovi u zglobovima. Oni se mogu očitovati u leđima zbog ankilozantnog spondilitisa ili u perifernim zglobovima zbog perifernog oligoartrikularnog artritisa. Moguće su i okularne manifestacije, poglavito uveitis i episkleritis. Lezije na koži se mogu pojaviti u obliku nodoznog eritema ili pyoderme gangrenosum. Kao

važna ekstraintestinalna manifestacija može se javiti i primarni sklerozirajući kolangitis, najčešće u mlađih muškaraca. U pedijatrijskoj populaciji moguć je zastoj u rastu.<sup>1</sup>

Moguće komplikacije CD su već spomenute fistule i strikture za koje se zna da u periodu od 10 godina od postavljanja dijagnoze u više od polovice bolesnika dovode do operativnog zahvata.<sup>18</sup> Striktore se dijele na upalne i fibrostenotične. Upalne se mogu liječiti lijekovima dok fibrostenotične treba liječiti kirurški ili balon dilatacijom.<sup>21</sup> Nastanak intraabdominalnih apscesa također je jedna od mogućih komplikacija snažne transmuralne upale. Toksični megakolon je u CD rijetka komplikacija koja se događa u 1-5% slučajeva.<sup>22</sup> Perforacija crijeva je isto tako rijetki događaj (1-3% bolesnika), ali se vrlo brzo razvija peritonitis te je potrebna hitna kirurška intervencija.<sup>23</sup> S vremenom u bolesnika s CD postoji i određeni rizik od razvoja intestinalnih karcinoma, ali i limfoidnih i mijeloidnih neoplazmi.<sup>24</sup>

### ***3.1.2. Dijagnostika Crohnove bolesti***

Prilikom sumnje na CD, bolesniku treba najprije uzeti detaljnu anamnezu i učiniti pažljivi fizikalni pregled. U anamnezi je bitno detaljno ispitati nastup i kvalitetu simptoma te funkcije i navike (broj stolica, noćna defekacija, pušenje). U kliničkom statusu mogu se naći distendirani abdomen, bolnost na palpaciju, no, moguće je i da će klinički nalaz biti potpuno neupadljiv. Sljedeći korak je upućivanje na određene laboratorijske pretrage koje će pomoći u usmjeravanju prema konačnoj dijagnozi. U osnovnim pretragama moguće je uočiti anemiju, leukocitozu i trombocitozu zbog upalnog stanja u organizmu.<sup>25</sup> Klinička aktivnost bolesti pokazuje dobru korelaciju s razinama C-reaktivnog proteina (CRP) u krvi.<sup>26</sup> Fekalni kalprotektin je biljeg prelaska neutrofila preko crijevne stijenke u lumen te služi za razlikovanje funkcionalnih od upalnih crijevnih poremećaja (npr. sindrom iritabilnog crijeva).<sup>27,28</sup> Kalprotektin pokazuje dobru korelaciju s endoskopskom aktivnošću bolesti, dok laktoferin pokazuje korelaciju s histološkim nalazom upale.<sup>27</sup> Kada su prisutni proljevi kod bolesnika treba učiniti mikrobiološku analizu stolice.

Od endoskopskih metoda, kolonoskopija je zlatni standard za postavljanje dijagnoze bolesti. Njome se vizualizira cijeli kolon i terminalni ileum, a pritom postoji mogućnost uzimanja biopsije kako bi se histološki verificirala kronična upalna bolest.<sup>29</sup> Kontraindikacije za kolonoskopiju su peritonealni nadražaj i akutna teška faza bolesti zbog prevelikog rizika od crijevne perforacije.<sup>30</sup> Pri sumnji na zahvaćenost gornjeg gastrointestinalnog sustava potrebno je napraviti ezofagogastroduodenoskopiju (EGD). Budući da je često zahvaćeno tanko crijevo u različitim lokalizacijama, za evaluaciju se koriste magnetska rezonanca (MR) ili

kompjutorizirana tomografija (CT) enterografija, intestinalni ultrazvuk (IUS) i endoskopija kapsulom. Kontraindicirana je uporaba kapsule kod striktura zbog toga što je moguća njena retencija u crijevu.<sup>29</sup> Za vizualizaciju lumena tankog crijeva na raspolaganju je i enteroskopija dvostrukim balonom (DBE) gdje se, osim što se prikazuje tanko crijevo u potpunosti, može izvesti i balonska dilatacija striktura.<sup>31</sup>

Budući da se endoskopskim pretragama ne mogu uočiti penetrirajuće komplikacije (apscesi, fistule) i transmuralnost upale u prisutnosti normalne sluznice,<sup>32</sup> kao komplementarne metode koriste se i određene radiološke metode. CT enterografija, uz aplikaciju kontrasta oralno i intravenski, pokazala se kao dobra metoda za prikaz ekstraintestinalnih promjena u abdomenu u CD<sup>33</sup> te ujedno za procjenu aktivnosti upale.<sup>30</sup> MR enterografija se smatra sigurnijom metodom u praćenju bolesnika zbog toga što nema izloženosti ionizirajućem zračenju.<sup>34</sup> MR omogućuje procjenu aktivnosti upale,<sup>30</sup> praćenje odgovora na terapiju, razlikovanje upalnog od fibroznog tipa striktura te vizualizaciju perianalnih fistula.<sup>35</sup> Obje metode su pokazale sličnu osjetljivost i specifičnost u detekciji aktivnosti bolesti i njenih komplikacija.<sup>36</sup> MR enterografija traje dulje te je procedura zahtjevnija, a i u mnogim centrima je dostupnost ograničena. U praćenju bolesnika s Crohnovom bolesti u novije vrijeme se koristi i IUS. On omogućuje prikaz debljine, motiliteta i vaskularizacije crijevne stijenke.<sup>29,37</sup> Ograničavajući faktor kod IUS-a je teška dostupnost proksimalnog ileuma, jejunuma i trasverzalnog kolona te nedostupnost rektuma vizualizaciji.<sup>30</sup> Njegova korist je u procjeni aktivnosti bolesti, prikazu apscesa, fistula i stenoza te dobra korelacija s histološkim i laboratorijskim nalazima te indeksima aktivnosti bolesti.<sup>11</sup> Pasaža s barijevim kontrastom se vrlo rijetko koristi budući da je inferiorna u specifičnosti i osjetljivosti u odnosu na ranije spomenute radiološke metode.<sup>29</sup>

### **3.1.3. Liječenje Crohnove bolesti**

Glavni cilj liječenja CD je indukcija remisije, a potom i njeno održavanje. U liječenju CD primjenjuju se farmakološko i kirurško liječenje. Lijekovi se mogu podijeliti u tri skupine: lijekovi za postizanje remisije, lijekovi za održavanje remisije te lijekovi za fistulirajuću perianalnu bolest.<sup>38</sup> Cilj liječenja CD nije više samo postizanje kliničke remisije (odsutnosti simptoma), nego i duboke remisije (mukozno cijeljenje).<sup>39</sup> Smjernice za liječenje Europskog udruženja za Crohnovu bolest i ulcerozni kolitis (ECCO) se temelje na procjeni aktivnosti, lokalizacije i ponašanja bolesti (tablica 1).<sup>40</sup>

Tablica 1. Klasifikacija Crohnove bolesti prema težini bolesti prema CDAI (engl. Crohn's Disease Activity Index) <sup>40</sup>

Klinička remisija	Blaga do umjerena	Umjerena do teška	Teška/fulminantna
CDAI < 150	<p>CDAI 150-220</p> <p>Bolesnici u ambulantnoj skrbi</p> <p>Jedu i piju normalno</p> <p>&lt; 10% gubitka na tjelesnoj masi</p> <p>Bez opstrukcije, vrućice, palpabilne mase ili bolnosti u abdomenu</p> <p>CRP povišen</p>	<p>CDAI 220-450</p> <p>Povremena povraćanja i gubitak na tjelesnoj masi veći od 10%</p> <p>Neuspješna terapija za blagu bolest, abdominalna bolnost</p> <p>Bez jasne opstrukcije</p> <p>CRP povišen</p>	<p>CDAI &gt; 450</p> <p>Kaheksija ili znakovi opstrukcije/apscesa</p> <p>Perzistentni simptomi unatoč intenzivnom liječenju</p> <p>CRP povišen</p>

Skupina lijekova s najblažim djelovanjem su aminosalicilati, odnosno mesalazin i poseban pripravak sulfasalazin namijenjen za otpuštanje aktivne supstance u debelom crijevu. U ovih lijekova se u CD nije pokazala statistički značajna korist u indukciji remisije u odnosu na placebo.<sup>38</sup> Sulfasalazin se pokazao umjereno uspješan u liječenju bolesti ograničene na kolon,<sup>41</sup> ali zbog visoke incidencije nuspojava njegova uporaba se više ne preporuča.<sup>30</sup>

Osobito važnu ulogu u liječenju Crohnove bolesti imaju glukokortikoidi, lokalnog i sistemskog djelovanja. Budezonid je oralni, lokalno djelujući pripravak čiji je učinak ograničen

na ileum i desni kolon te se pokazao kao lijek izbora za indukciju remisije blage do umjerene bolesti lokalizacijom ograničene na taj dio probavne cijevi.<sup>38</sup> Budući da se vrlo brzo metabolizira u jetri, nuspojave vezane uz uporabu glukokortikoida su manje izgledne. Sistemski glukokortikoidi imaju i dalje široku primjenu u indukciji remisije kod raznih oblika bolesti. Prednizolon oralno se koristi u aktivnoj bolesti, a ovisno o težini bolesti i fenotipu te u slučaju steroid-ovisne bolesti dodaje se imunosupresiv za održavanje remisije.<sup>42</sup> Bolesnicima koji su steroid-refrakterni preporuča se uvođenje biološke terapije.<sup>30,38</sup> Kod fulminantnog oblika bolesti potrebna je intravenska aplikacija metilprednizolona. Njihova dodatna korist očituje se u tome da njihova primjena prije uvođenja biološke terapije smanjuje potencijalnu imunogeničnost.<sup>42</sup>

Kao kod brojnih drugih kroničnih upalnih bolesti i imunosupresivi su našli svoje mjesto u algoritmima liječenja CD. U uporabi su metotreksat i azatioprin. Azatioprin se preporuča za održavanje remisije u steroid-ovisnih bolesnika.<sup>30</sup> Budući da ima spori nastup učinka (8-12 tjedana), njegova primjena često započinje već pri započinjanju liječenja s glukokortikoidima.<sup>43</sup> Metotreksat je alternativna opcija s ciljem održavanja remisije za bolesnike koji ne toleriraju azatioprin. Za razliku od azatioprina, kombinacija metotreksata s infliksimabom nije pokazala sinergizam u održavanju remisije,<sup>30</sup> ali potencijalna korist navedene kombinacije mogla bi biti u smanjenju stvaranja protutijela na monoklonska protutijela.<sup>44</sup> Neki od neželjenih učinaka su intolerancija, leukopenija, hepatotoksičnost i teratogenost.

Iznimno značajni i atraktivni lijekovi za liječenje CD su biološke molekule. Među njima postoji skupina protutijela koja se vežu na faktor tumorske nekroze alfa, takozvani anti-TNF lijekovi. U liječenju Crohnove bolesti koriste se infliksimab (kimerično protutijelo), adalimumab (protutijelo humanog porijekla) i certolizumab pegol (nije odobren za korištenje u Europskoj uniji). Oni se koriste u indukciji remisije kod umjerenog do teškog oblika bolesti kada bolesnik ne tolerira klasični imunosupresiv,<sup>38</sup> u fulminantnom obliku kada nema odgovora na glukokortikoide ili su prisutni nepovoljni prognostički faktori bolesti<sup>30</sup> te, ukoliko je postignuta remisija tim lijekovima, za održavanje remisije.<sup>38</sup> Infliksimab je prema ECCO smjernicama lijek izbora za liječenje perianalnog oblika bolesti, a adalimumab je moguća alternativa kod bolesnika intolerantnih na infliksimab.<sup>38</sup> Budući da je moguće stvaranje protutijela na ovu vrstu terapije koja mogu kompromitirati njen učinak, dokazana je korist dodavanja imunosupresiva prilikom liječenja infliksimabom u smislu manjeg stvaranja antitijela,<sup>45</sup> ali i boljih ishoda u liječenju.<sup>43</sup> Kombinacija adalimumaba s azatioprinom nije

pokazala korist u usporedbi s monoterapijom adalimumabom.<sup>46</sup> S obzirom na to da su bolesnici koji primaju anti-TNF terapiju pod povećanim rizikom za razvoj oportunističkih infekcija potrebno je prije njihove primjene učiniti testiranja na tuberkulozu, viruse hepatitisa B i C te virus humane imunodeficijencije (HIV). Potrebno je i provjeriti dotadašnja cijepljenja te izbjegavati živa cjepiva za vrijeme trajanja terapije ili, u slučaju potrebe cijepljenja živim cjepivom, odgoditi početak terapije za 3 mjeseca od primitka zadnje doze cjepiva.<sup>47</sup> Što se tiče malignih bolesti, anti-TNF terapija povećava rizik od limfoma, a budući da se nekad koristi u kombinaciji s imunosupresivima pojavljuje se i rizik od limfoproliferativnih bolesti.<sup>30</sup>

Nove molekule za liječenje su vedolizumab i ustekinumab. Vedolizumab je humanizirano monoklonsko protutijelo usmjereno na  $\alpha 4\beta 7$  integrin koje blokira prienos T-limfocita u sluznicu gastrointestinalnog trakta. U studijama GEMINI II i III dokazana je korist od vedolizumaba u postizanju remisije kod bolesnika s CD.<sup>48</sup> Klinička studija VERSIFY pokazala je da je vedolizumab učinkovit u postizanju endoskopske i histološke remisije te radioloških znakova cijeljenja.<sup>49</sup> ECCO smjernice preporučuju vedolizumab za održavanje remisije u bolesnika kojima je ona postignuta ovim lijekom.<sup>38</sup> S obzirom da djeluje selektivno na gastrointestinalni trakt, manji je rizik za pojavu sustavnih oportunističkih infekcija i maligne bolesti.<sup>50</sup>

Ustekinumab je monoklonsko protutijelo koje se veže na p40 podjedinicu koja je zajednička proupalnim citokinima interleukinu 12 i interleukinu 23. ECCO preporučuje uporabu ustekinumaba u bolesnika koji nisu postigli uspjeh s anti-TNF terapijom u indukciji i održavanju remisije kod umjerenog do teškog oblika bolesti, uz podjednaku incidenciju štetnih učinaka kao i u slučaju primjene vedolizumaba.<sup>38</sup>

U sklopu liječenja Crohnove bolesti ponekad je potrebno primijeniti antibiotike. Najčešće se koriste metronidazol i ciprofloksacin, a sve se više istražuje i rifaksimim. Ne preporučuju se u indukciji remisije.<sup>30</sup> Njihova uloga je u liječenju apscesa, perianalnih manifestacija i septičkih komplikacija.<sup>38,51</sup> Pokazano je da uporaba antibiotika nosi i rizik za brojne nuspojave: otpornost na liječenje, infekciju s *C.difficile* te porast rezistencije na antibiotike.<sup>51</sup>

Osim konzervativnog liječenja Crohnove bolesti ponekad je nužno uključiti i kirurško liječenje. Rizik za operativni zahvat u tijeku bolesti nose sadašnje pušenje cigareta, penetrirajući i strikturirajući fenotip bolesti, bolest u ileumu i jejunumu, mlađa dob pri postavljanju dijagnoze, terapija glukokortikoidima u prvih tri mjeseca trajanja bolesti. Anti-TNF terapija se

pokazala učinkovitom u sprječavanju potrebe za operacijom, kao i rano uvođenje azatioprina. Potreba za kirurškim zahvatom postoji prilikom pojave apscesa kada je potrebna drenaža, fistula, ako zakaže medikamentna terapija te kod fibrostenotičnih, opstruktivskih komplikacija. Za strikture je moguća i endoskopska balon dilatacija, ali preporuča se samo onda ako je moguća opcija kirurške intervencije u slučaju pojave komplikacija.<sup>52</sup> Za profilaksu recidiva CD nakon operativnog zahvata dokazana je učinkovitost anti-TNF terapije.<sup>53</sup>

### **3.1.3.1. Azatioprin**

Azatioprin je purinski antimetabolit koji pripada u skupinu citotoksičnih imunosupresiva. On djeluje putem interferencije s metabolizmom purina i stvaranja nukleinskih kiselina te se time smanjuje stvaranje stanica u upalnom odgovoru. Njegova apsorpcija je podjednaka u svim dijelovima probavne cijevi. Od azatioprina nastaje njegov metabolit 6-merkaptopurin, koji ulaskom u stanice prelazi u aktivni oblik 6-tiogvanin (6-TGN). Jedan od ključnih enzima u metabolizmu lijeka je tiopurin-metiltransferaza (TPMT). Njegova aktivnost je u negativnoj korelaciji s razinom 6-TGN u eritrocitima pa osobe koje imaju homozigotni ili heterozigotni nedostatak alela za TPMT zahtijevaju posebnu pozornost. Homozigotni nedostatak se nalazi u oko 0.3% ljudi i kod njih su koncentracije merkaptopurina u toksičnim razinama te su pod velikim rizikom za mijelosupresiju. Heterozigotni nedostatak postoji u 10% populacije pa je aktivnost niskog intenziteta te bi smanjenjem doze ti bolesnici mogli uz pažljivo praćenje nastaviti s uzimanjem lijeka. Ksantin-oksidaza je zadužena za stvaranje 6-tiourične kiseline koja se izlučuje bubrezima, stoga ljudi koji u terapiji imaju i inhibitore ksantin-oksidaze (alopurinol) trebaju biti pod posebnim oprezom zbog mogućeg porasta koncentracije metabolita u krvi. Štetni učinci njegove primjene su supresija koštane srži, hepatotoksičnost, reakcije preosjetljivosti (povišena tjelesna temperatura, osip, proljev, pankreatitis), a smatra se i da postoji određeni, premda mali, rizik od limfoma.<sup>54,30</sup> Azatioprin je odobren za liječenje upalne bolesti crijeva, sistemskog eritematoznog lupusa, reumatoidnog artritisa, nodoznog poliartritisa, autoimune hemolitičke anemije, idiopatske trombocitopenične purpore i za pacijente s transplantiranim organima za poboljšanje preživljenja presatka. Prosječna doza za liječenje CD je 2-2,5 mg/kg tjelesne težine dnevno, a prema potrebi se može modificirati.<sup>54</sup> Prije nego što se započne terapija azatioprinom, preporučuje se obaviti TPMT testiranje. Ono može biti testiranje fenotipa TPMT u kojem se u eritrocitima mjeri aktivnost tog enzima. Postoji i testiranje genotipa koje traži polimorfizme u



obitelji alela TPMT\*3 i TPMT\*2. Genotipski i fenotipski rezultati se poklapaju u više od 98% slučajeva.<sup>55</sup>

Osim testiranja aktivnosti TPMT enzima, mogu se mjeriti i razine metabolita azatioprina u krvi. Razine 6-tiogvanina (6-TGN) i 6-metil-merkaptopurina (6-MMP) su bitne u definiranju uzroka neuspjeha terapije ili detekciji nesuradljivosti bolesnika tijekom uzimanja terapije. Subterapijske razine 6-TGN unatoč visokim dozama primijenjenog lijeka, mogući su indikator bolesnika rezistentnog na terapiju te se može uz povećanje doze uočiti rast 6-MMP što je upozorenje za potencijalnu hepatotoksičnost. Kod refraktornih bolesnika, terapijske, čak i toksične razine 6-TGN i dalje ne daju klinički odgovor na terapiju. Jedan od problema prilikom terapije je i subdoziranje koje se isto može uočiti na temelju mjerenja metabolita u krvi.<sup>56</sup>

#### **3.1.4. Praćenje bolesnika s Crohnovom bolešću**

U svrhu objektiviziranja stanja i kliničkog praćenja bolesnika osmišljen je indeks aktivnosti CD (CDAI) (tablica 2). Opće prihvaćena vrijednost CDAI za remisiju je manje od 150 bodova. Za relaps je u istraživanjima predložen CDAI > 150 uz porast za više od 70 bodova, ali nema generalnog konsenzusa oko vrijednosti.<sup>30</sup> Uz CDAI u upotrebi za praćenje i procjenu stanja bolesnika, ali i njihovog odgovora na liječenje se koristi Harvey-Bradshaw indeks (HBI). Prema tom indeksu remisija je definirana kao rezultat manji od 3, a relaps kao rezultat veći od 7 (tablica 3).<sup>57</sup>

Od laboratorijskih parametara koji služe za praćenje Crohnove bolesti, predviđanje vjerojatnosti relapsa bolesti te u bolesnika nakon kirurških zahvata izdvajaju se CRP i fekalni kalprotektin. Mana CRP-a je njegova niska specifičnost. Kalprotektin pokazuje bolju korelaciju s endoskopskim nalazima od CRP-a,<sup>26</sup> posebice u ulceroznom kolitisu, no u Crohnovoj bolesti njegove razine pokazuju slabu korelaciju s endoskopskim i laboratorijskim parametrima bolesti.<sup>58</sup>

Tablica 2. CDAI<sup>57</sup>

<b>Klinička ili laboratorijska varijabla</b>	<b>Težinski čimbenik</b>
Broj tekućih ili mekanih stolica svakog dana u periodu od 7 dana	2
Abdominalna bol (gradirana od 0 do 3) svakog dana u periodu od 7 dana	5
Opće stanje (gradirano od 0 do 4, od najboljeg prema najgorem) svakog dana u periodu od 7 dana	7
Komplikacije (artralgije, uveitis, nodozni eritem, pyoderma gangrenosum, ulceracija, aftozne ulceracije, fisure, fistule, apscesi, vrućica), po 1 bod za svaku	20
Upotreba difenoksilata ili opijata za proljev	30
Abdominalna masa (nikakva = 0, upitna = 2, definitivna = 5)	10
Devijacije u hematokritu od 47% za muške i 42% za žene	6
Postotna devijacija od standardne tjelesne težine	1

Tablica 3. HBI<sup>57</sup>

<b>Opće stanje</b>	
jako dobro	0
malo ispod prosječnog	1
loše	2
jako loše	3
užasno	4
<b>Abdominalna bol</b>	
nema	0
blaga	1
umjerena	2
teška	3
<b>Broj tekućih stolica dnevno</b>	
0-1	0
2-3	1
4-5	2
6-7	3
8-9	4
10+	5
<b>Abdominalna masa</b>	
nema	0
sumnjiva	1
definitivna	2
bolna	3
<b>Komplikacije</b>	
artralgija, uveitis, nodozni eritem, aftozne ulceracije, pyoderma gangrenosum, analne fisure, nove fistule, apscesi	1 bod za svaku

Endoskopsko praćenje bolesnika služi kao metoda za praćenje aktivnosti bolesti u sluznici, iako mnogi s klinički aktivnom bolesti neće imati nikakvih endoskopskih znakova upale. Endoskopski pregled ujedno služi i za procjenu mukoznog cijeljenja i procjenu stupnja aktivnosti na anastomozi crijeva odnosno postoperativnog recidiva bolesti. Osim toga, endoskopski pregled je vrlo koristan za procjenu stanja sluznice prije odluke o promjeni lijeka.<sup>5</sup>

## 4. Mukozno cijeljenje

Napretkom i otkrićem bioloških lijekova, cilj liječenja CD više nije samo indukcija kliničke remisije, nego postizanje tzv. duboke remisije, odnosno mukoznog cijeljenja. Ono je povezano s boljim dugoročnim održavanjem remisije, smanjenim potrebama za operacijom i hospitalizacijom te manjim rizikom za razvoj kolorektalnog karcinoma. Premda nema generalno usuglašene definicije, u osnovi, mukozno cijeljenje predstavlja sluznicu bez ulceracija i znakova upale. Kao zlatni standard za evaluaciju mukoznog cijeljenja predložene su endoskopske dijagnostičke metode.<sup>60</sup> Pri evaluaciji sluznice na endoskopskom pregledu kliničari se služe sa dva bodovna sustava za ocjenjivanje stanja sluznice: CDEIS (Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity) i SES-CD (Simplified Endoscopic Score for Crohn's Disease) (tablica 4 i 5).<sup>6</sup>

Tablica 4. CDEIS <sup>61</sup>

Varijabla	Opis varijable	Čimbenik težine	Zbroj
1	Broj rektokoloničkih segmenata (rektum, sigma i lijevi kolon, transverzum, desni kolon, ileum) sa vidljivim dubokim ulceracijama, podijeljen s brojem pregledanih segmenata	12	
2	Broj rektokoloničkih segmenata (rektum, sigma i lijevi kolon, transverzum, desni kolon, ileum) sa vidljivim površnim ulceracijama, podijeljen s brojem pregledanih segmenata	6	
3	Površina segmenata zauzetih bolešću. Stupanj bolesti na svakom se segmentu određuje prema prisustvu 9 lezija (pseudopolipi, izlječene ulceracije, eritem, edem sluznice, afte, površni ulkusi, duboki ulkusi, neulcerirane stenoze, ulcerirane stenoze) i izračuna broj cm sluznice s prisutnom 1 ili više lezija u reprezentativnih 10 cm svakog segmenta. Srednja segmentalna zahvaćenost sluznice izračunava se dijeljenjem zbroja zahvaćenosti površine pojedinih segmenata s brojem pregledanih segmenata	1	
4	Površina segmenata zauzetih ulceracijama. Stupanj ulceracija na svakom se segmentu određuje prema prisustvu ulceracija (afta, površnih ulkusa, dubokih ulkusa, ulcerirane stenoze) i izračuna broj cm sluznice s prisutnom ulceracijama u reprezentativnih 10 cm svakog segmenta. Srednja segmentalna zahvaćenost sluznice ulceracijama izračunava se dijeljenjem zbroja ulkusima zahvaćene površine pojedinih segmenata s brojem pregledanih segmenata	1	
5	Nalaz neulcerirane stenoze na svakom pregledanom dijelu crijeva	3	
6	Nalaz ulcerirane stenoze na svakom pregledanom dijelu crijeva	3	
Ukupno CDEIS			

Tablica 5. SES-CD <sup>61</sup>

Varijable	SES-CD score			
	0	1	2	3
Prisustvo ulkusa	Nema	Aftozni ulkusi ( $\emptyset$ 0,1–0.5 cm)	Veliki ulkusi ( $\emptyset$ 0,5–2 cm)	Vrlo veliki ulkusi ( $\emptyset > 2$ cm)
Ulcerirana površina	Nema	< 10%	10–30%	> 30%
Zahvaćena površina	Nezahvaćena Površina	< 50%	50–75%	> 75%
Prisustvo stenoza	Nema	Jedna, može se proći	Više, mogu se proći	Nemoguć prolaz
Broj zahvaćenih segmenata	Sve varijable = 0	Barem 1 varijabla $\geq 1$		

Još nema konsenzusa oko graničnih vrijednosti u procjeni mukoznog cijeljenja, ali smatra se da bi CDEIS manji od 4 i SES-CD vrijednost između 0 i 2 mogli dobro korelirati s mukoznim cijeljenjem.<sup>60</sup> S obzirom da endoskopija ne može prikazati stijenku crijeva u cijelosti, MR enterografija je vrlo korisna u ocjenjivanju mukoznog cijeljenja. Osim toga, njome se neinvazivno može dobiti uvid u tanko crijevo koje je teže dostupno endoskopiji. Za ocjenu mukoznog cijeljenja postoji MaRIA (Magnetic Resonance Index of Activity) *score* koji je pokazao dobru korelaciju s endoskopskim rezultatima<sup>39</sup>. Kao pridruženi koncept javlja se i histološko cijeljenje koje pokazuje mikroskopsko stanje upalne aktivnosti sluznice. U Crohnovoj je bolesti, zbog preskačućih lezija, teško izvedivo pratiti histološko stanje na svim lokacijama bolesti.<sup>60</sup> Smatra se da bi patohistološka procjena mukoznog cijeljenja mogla biti objektivan način za potvrdu mirne sluznice, ali zbog nedostatka standardiziranog pristupa još uvijek nije uvrštena u skupinu ciljeva liječenja.<sup>61</sup>

## **5. Uloga azatioprina u liječenju Crohnove bolesti**

Primjena azatioprina se preporuča za održavanje remisije u steroid-ovisnih bolesnika.<sup>30</sup> Budući da azatioprin ima spori nastup učinka (8-12 tjedana), njegova primjena započinje vrlo često već pri početku liječenja glukokortikoidima.<sup>43</sup> Dodatna prednost azatioprina je njegova primjena u kombinaciji s biološkom terapijom što dovodi do poboljšanih ishoda za bolesnike. Tako je studija SONIC pokazala da je infliksimab (anti-TNF monoklonsko protutijelo) u kombinaciji s azatioprinom superiorniji u postizanju remisije od monoterapije azatioprinom. Studija AZTEC nije uspjela pokazati korist od azatioprina pri njegovom uvođenju unutar prvih 8 tjedana od dijagnoze bolesti.<sup>63</sup> Štetni učinci azatioprina su brojni pa je bitno pacijente pratiti i prilagođavati im dozu. Europska organizacija za Crohnovu bolest i kolitis (ECCO) je objavila u svojem konsenzusu da korist od primjene azatioprina (poboljšana kvaliteta života) nadmašuje rizik od limfoma.<sup>30</sup> Studija koja je istraživala dugoročni efekt ukidanja terapije azatioprinom i pojavu relapsa sugerira da se azatioprinom može dugoročno liječiti kada ga bolesnik dobro tolerira.<sup>64</sup>

### **5.1. Učinkovitost azatioprina u liječenju Crohnove bolesti**

Azatioprin se desetljećima koristi u liječenju upalne bolesti crijeva, a prema zadnjim ECCO smjernicama se preporučuje u liječenju umjerenog do teškog oblika Crohnove bolesti. U metaanalizi koja je uspoređivala učinkovitost u odnosu na placebo u 6 ispitivanja u periodu od 42 godine pokazano je da je učinkovitiji od placeba uz nešto veću incidenciju neželjenih događaja. Nije učinkovit za indukciju remisije u aktivnoj bolesti, ali je koristan za održavanje remisije u steroid-ovisnih bolesnika.<sup>38</sup> Istraživanjem na staničnim kulturama dokazano je da metaboliti azatioprina suprimiraju upalni odgovor makrofaga i crijevnih epitelih stanica, a antiproliferacijsko djelovanje izražavaju i prema endotelnim stanicama i T-limfocitima.<sup>65</sup> Djelotvornost azatioprina u cijeljenju upalnih lezija sluznice istraživala je grupa istraživača iz Leuvena pred više od dvadesetak godina i potvrdila da je azatioprin učinkovit i u indukciji endoskopske remisije.<sup>66,67</sup>

### **5.2. Rezultati dosadašnjih istraživanja o postizanju mukoznog cijeljenja u bolesnika s Crohnovom bolesti liječenih azatioprinom**

Jedno od prvih istraživanja učinkovitosti azatioprina po pitanju mukoznog cijeljenja objavili su 1995. godine Sandborn i suradnici. U toj studiji je na maloj grupi bolesnika

istraživan učinak infuzije azatioprina u dozi od 1800 mg kroz 36 sati uz kasnije postupno uvođenje oralnog oblika lijeka. Od ukupno 6 bolesnika koji nisu imali fistulirajući oblik bolesti, četvero ih je postiglo kliničku remisiju, a u 16. tjednu je na kolonoskopiji od tih četvero pacijenata njih troje postiglo endoskopsku remisiju registriranu kao makroskopsku remisiju, ali bez ožiljkavanja i pseudopolipa, dok je jedan bolesnik imao još uvijek blage znakove upale.<sup>68</sup> Među prvim istraživačima mukoznog cijeljenja pomoću azatioprina u Crohnoj bolesti bila je belgijska grupa istraživača iz Leuvena. Prvo kliničko istraživanje koje se bavilo mukoznim cijeljenjem u oboljelih od Crohnove bolesti liječenih azatioprinom je bilo objavljeno 1997. godine. U tom istraživanju praćeno je 15 bolesnika koji su prethodno bili na ileocekalnoj resekciji u toj ustanovi te su poslije razvili teški neoterminalni ileitis. Trajanje terapije azatioprinom bilo je minimalno 6 mjeseci uz kompletno ukidanje glukokortikoida iz terapije. Stanje sluznice je bilo evaluirano endoskopski ili radiološki pasažom tankog crijeva, u vrijeme recidiva bolesti, a potom ponovno nakon perioda liječenja azatioprinom. Stupanj inflamacije u crijevu odnosno mukozno cijeljenje evaluirano je bodovnim sustavom koji se do danas koristi u postoperativnom praćenju operiranih bolesnika s CD (Rutgeertsov *score*). Šest od ukupno 15 bolesnika je razvilo kompletno mukozno cijeljenje, gotovo kompletno cijeljenje njih 5, djelomično cijeljenje je bilo uočeno u troje bolesnika, a samo jedan je imao nepromijenjenu sluznicu. Svi bolesnici su postigli kliničku remisiju.<sup>66</sup> Drugo istraživanje koje je provela ta skupina objavljeno je 1999. godine. U njemu je bilo retrospektivno analizirano 20 bolesnika u kliničkoj remisiji koji su najmanje 9 mjeseci bili liječeni azatioprinom, a u tom periodu su se liječili barem tri mjeseca bez primjene glukokortikoida. Prije početka liječenja azatioprinom imali su učinjenu kolonoskopiju, ne stariju od godinu dana, a potom su nakon zadanog perioda bili ponovno endoskopirani. Raspon trajanja terapije je u prosjeku bio 1-3 godine. U području kolona registrirano je kompletno cijeljenje u 70% bolesnika, gotovo kompletno u 10%, parcijalno cijeljenje u 15%, a bez cijeljenja je ostalo 5%. Rezultati za ileum su bili nešto slabiji: u 54% bolesnika je registrirano kompletno cijeljenje, u 15% gotovo kompletno, u 8% parcijalno, a u 15% nije bilo cijeljenja lezija u ileumu bolesnika (tablica 6)<sup>67</sup>.

Tablica 6. Stupnjevi cijeljenja prema D'Haens i sur.<sup>67</sup>

Kompletno cijeljenje	Nestanak svih endoskopskih lezija
Gotovo kompletno cijeljenje	Samo aftozni ulkusi <5 mm ili erozije gdje su prethodno bili prisutni ulkusi >5 mm
Parcijalno cijeljenje	Veći ulkusi prisutni uz značajno (>33%) smanjenje u veličini
Bez cijeljenja	Nema promjena ili pogoršanje

Francusko društvo koje se bavi liječenjem upalnih bolesti crijeva (GETAID) 2005. godine je objavilo randomizirano, dvostruko slijepo, prospektivno istraživanje o ukidanju azatioprina nakon postizanja dugotrajne kliničke remisije azatioprinom. U istraživanje je bilo uključeno 83 ispitanika koji su uzimali azatioprin dulje od 3.5 godine i postigli kliničku remisiju, bez upotrebe glukokortikoida ili biološke terapije u tom periodu. Sudionici su bili randomizirani u dvije skupine, jedna je nastavila primati azatioprin, a druga je primala placebo. Kao krajnji ishod istraživanja je bio relaps bolesti nakon 18 mjeseci mjereno kao povišenje aktivnosti bolesti pomoću CDAI ili potreba za operativnim zahvatom. Više je relapsa bilo u skupini koja je primala placebo. Od svih bolesnika koji su bili uključeni u istraživanje samo ih je 45 prethodno imalo endoskopski nalaz kojim se moglo utvrditi stanje sluznice u kliničkoj remisiji. Svega 36% (16 bolesnika) je imalo kompletno mukozno cijeljenje (definirano u istraživanju kao CDEIS jednak nuli), dok ih je 47% (21 bolesnik) još uvijek imalo ulceracije na endoskopskom nalazu. Na temelju navedenih rezultata istraživači su zaključili kako mukozno cijeljenje nije prediktor relapsa bolesti.<sup>69</sup>

Jedno od ranijih istraživanja GETAID-a pokazalo je da se liječenjem glukokortikoidima postiže mukozno cijeljenje u manje od trećine pacijenata. No, budući da glukokortikoidi nisu terapija za održavanje remisije i njihova dugoročna primjena nosi opasne rizike za bolesnike, javila se ideja da se istraži sposobnost budezonida, koji djeluje lokalno i ima bolji sigurnosni profil od sistemskih glukokortikoida, da izazove mukozno cijeljenje. Mantzaris i suradnici su proveli istraživanje u kojem su usporedili učinke budezonida i azatioprina na mukozno cijeljenje u steroid-ovisnih bolesnika kojima je remisija inducirana glukokortikoidima. Bolesnici su bili randomizirani u skupine koje će primati ili azatioprin ili budezonid u trajanju od godine dana. Prije i poslije kompletiranja sudjelovanja u istraživanju, objema skupinama je učinjena kolonoskopija te izračunat CDEIS. Od 38 bolesnika liječenih azatioprinom, 8 ih se povuklo iz istraživanja zbog nuspojava ili relapsa, u odnosu na 14 odustanaka bolesnika koji su



liječeni budezonidom. Ukupno 83% bolesnika tretiranih azatioprinom postiglo je kompletno ili gotovo kompletno mukozno cijeljenje u kolonu, dok je u skupini tretiranoj budezonidom to postignuto u samo 24% ( $p < 0.0001$ ). Samo 1 od 30 bolesnika liječenih azatioprinom nije imao promjene stanja sluznice, dok je u skupini na budezonidu to bio slučaj kod čak 12 od 25 bolesnika. Stanje sluznice u terminalnom ileumu je bilo bolje kod bolesnika liječenih azatioprinom, 59% je imalo kompletno cijeljenje, 21% gotovo kompletno, a 16% parcijalno cijeljenje. Neželjenih događaja je bilo više u skupini na azatioprinu, no samo dvoje bolesnika je imalo teške nuspojave (pankreatitis i leukopenija). Multivarijantnom regresivnom analizom identificirano je da je rano uvođenje azatioprina u tijeku bolesti (unutar godinu dana od pojave bolesti) jedini prediktivni faktor kompletnog cijeljenja u Crohnovoj bolesti. Paralelno je analizirano i histološko stanje sluznice te je jedino u skupini s azatioprinom uočeno značajno poboljšanje.<sup>70</sup>

Murakami i suradnici su objavili retrospektivno istraživanje na 53 bolesnika liječenih u njihovoj ustanovi koji su primali terapiju azatioprinom. Endoskopski nalaz je imalo samo 16 bolesnika, 56% je pokazalo kompletno cijeljenje, 19% parcijalno, a u 25% bolesnika nije registrirano poboljšanje stanja sluznice. Za razliku od nekih drugih istraživanja, ovdje se nije koristio CDEIS ili SES-CD u evaluaciji sluznice, nego opis ulceracija i dogovoreni *score* sukladno opisu stanja.<sup>71</sup>

Laharie i suradnici su proveli prospektivno istraživanje u kojem su uspoređivali postizanje mukoznog cijeljenja bolesnika s CD uz primjenu tri različita lijeka – metotreksata, azatioprina i infliksimaba. Uvjeti za uključivanje u istraživanje bili su sljedeći: bolesnici su morali biti stariji od 18 godina, postavljanje dijagnoze CD obavezno je morao pratiti nalaz kolonoskopije kojim su registrirane ulceracije na sluznici i klinička remisija bez glukokortikoida morala je biti postignuta kroz barem 3 mjeseca na monoterapiji jednim od lijekova koji su se istraživali. Period praćenja ispitanika bio je u prosjeku 13 mjeseci te je pokazano da je manje relapsa bilo u bolesnika s vrijednostima CDEIS manjim od 4. Kompletno mukozno cijeljenje potvrđeno je u onih bolesnika kojima je CDEIS bio manji od 4, a vrijednosti skora manje od 6 smatrane su endoskopskom remisijom. Od 18 bolesnika liječenih metotreksatom potpuni nestanak sluzničkih ulceracija postignut je kod dvoje ispitanika (11%). Rezultati za azatioprin su bili značajno bolji, te je 50% od 18 ispitanika ( $p = 0.011$  u odnosu na metotreksat), odnosno 9 ispitanika, postiglo cijeljenje. U skupini bolesnika liječenih infliksimabom, 9 od 15 ispitanika je postiglo cijeljenje (60%,  $p = 0.008$  u odnosu na metotreksat). Što se tiče udjela bolesnika unutar raspona za CDEIS manji od 4, najveći je bio u

skupini liječenih azatioprinom. Multivarijatna analiza u istraživanju je pokazala da su prediktivni faktori za nastanak mukoznog cijeljenja uporaba azatioprina (omjer šansi (OR) = 7,13, 95%-tni interval pouzdanosti (95% CI): [1.11–45.68] ) ili infliksimaba (OR = 19,02, 95% CI [2.49–145.52]) te ilealni oblik bolesti bez zahvaćanja kolona (OR = 5,77, 95% CI [1.27–26.28]).<sup>72</sup>

Godine 2010. Colombel i suradnici objavili su rezultate SONIC istraživanja. To je bilo randomizirano, dvostruko slijepo istraživanje u kojem su uspoređivali djelotvornost monoterapije infliksimabom, monoterapije azatioprinom i kombinacije ta dva lijeka u bolesnika koji su imali umjereni do teški oblik CD i nisu prethodno koristili neku od imunosupresivnih i bioloških lijekova. Bolesnici su bili steroid-ovisni, a nisu unutar 4 tjedana odgovarali na terapiju mesalaminom ili budenozidom. Iz istraživanja su isključeni bolesnici koji su heterozigoti za enzim TPMT. Bolesnici su tretirani s tri moguće kombinacije lijekova: infliksimab plus oralni placebo, azatioprin plus placebo u infuziji ili kombinirana terapija. Istraživanje je trajalo 30 tjedana, s 20 tjedana produženja, a primarni cilj je bio postizanje steroid-neovisne remisije u 26. tjednu. Među sekundarnim ciljevima bilo je postizanje mukoznog cijeljenja u bolesnika koji su imali od ranije registrirane ulceracije na sluznici (u ovom istraživanju to je bilo ukupno 325 sudionika) te je ono definirano kao odsutnost ulceracija u sluznici. U 26. tjednu, u skupini koja je bila liječena kombiniranom terapijom, 43,9% ispitanika je postiglo cijeljenje, 30,1% liječenih infliksimabom te samo 16,5% azatioprinom ( $p = 0,02$  za infliksimab u odnosu na azatioprin,  $p < 0,001$  za kombinaciju u odnosu na azatioprin,  $p = 0,06$  za kombinaciju u odnosu na infliksimab). Rezultati u kasnijim tjednima su bili u skladu s onima u 26. tjednu te su pokazali bolje rezultate za kombiniranu terapiju i infliksimab negoli za azatioprin.<sup>43</sup>

Yu i suradnici su 2014. godine objavili rezultate prospektivnog istraživanja u Kini u kojem su na 36 bolesnika pratili učinkovitost liječenja azatioprinom u cijeljenju lezija u tankom crijevu. Evaluacija stanja sluznice prije istraživanja učinjena je enteroskopski te CT enterografijom te im je izračunat SES-CD. Ponovna endoskopska evaluacija učinjena je nakon 12 i nakon 24 mjeseca liječenja azatioprinom. Na prvoj evaluaciji kompletno cijeljenje je bilo uočeno u 19% ispitanika, gotovo kompletno u 6%, a parcijalno 28%. Nakon 24 mjeseca rezultati su bili još bolji te je kompletno cijeljenje bilo prisutno u 31% ispitanika, gotovo kompletno u 25%, a parcijalno u 33%. U intervalu od 12 mjeseci svi bolesnici kojima je SES-CD bio manji od 5 postigli su kompletno cijeljenje, a nakon još dodatnih 12 mjeseci nitko nije imao relaps. Istraživači su zaključili da je važan faktor za postizanje cijeljenja početni SES-CD od 6 bodova ili manje. Multivarijatnom analizom utvrđeno je da je jedini prediktor rano

uvođenje azatioprina (trajanje bolesti ne dulje od godinu dana pri uvođenju) (OR 1.27, 95% CI 1.10–1.47,  $p = 0.001$ ). Ograničenje istraživanja je bila činjenica što se liječenje azatioprinom započinjalo s niskim dozama lijeka (u početku 25 mg dnevno), a ne postoji ni konsenzus za azijsku populaciju i doze azatioprina u liječenju CD. Kako su za ulcerozni kolitis već ranije registrirane manje doze od onih potrebnih za bijelu rasu, istraživači nisu primjenjivali doze uobičajene za bijelu rasu zbog straha od neželjenih događaja.<sup>73</sup>

Godine 2016. su istraživači iz jednog istanbulskog centra objavili svoje retrospektivno istraživanje u bolesnika koji su se liječili azatioprinom u njihovoj ustanovi. U istraživanju su analizirali 75 bolesnika s CD kojima su učinili endoskopska evaluaciju u 16. tjednu terapije. Mukozno cijeljenje nakon 16 tjedana terapije postiglo je u 33% bolesnika s Crohnovom bolesti. Kod onih koji su odgovorili na terapiju smanjile su se i potrebe za kirurškim intervencijama. U istraživanju negativni prediktivni faktori za odgovor na terapiju azatioprinom bili su mlađa dob pri postavljanju dijagnoze te muški spol (za svaki prediktor  $p < 0,05$ ).<sup>74</sup>

Huang i suradnici su 2017. godine objavili istraživanje u kojem su retrospektivno analizirali učinke metotreksata i tiopurina u postizanju kliničke remisije i mukoznog cijeljenja kod refrakterne Crohnove bolesti. Za uključivanje u skupinu liječenih metotreksatom kriteriji su bili refrakternost na primjenu tiopurina ili intolerancija tiopurina, a u drugoj su skupini bili bolesnici liječeni tiopurinom koji prije nisu imali susret s tim lijekom. U 36. tjednu je 36 bolesnika iz obje skupine bilo endoskopski pregledano, a mukozno cijeljenje je bilo definirano kao SES-CD jednak nuli. Indukcija kliničke remisije u 16. tjednu je bila nešto veća u skupini na tiopurinu u odnosu na metotreksat, no u kasnijem praćenju rezultati su bili slični za obje skupine. Rezultati su bili podjednaki za metotreksat i tiopurine, odnosno 47% u obje skupine je postiglo mukozno cijeljenje ( $p \approx 1.000$ ). Multivarijatnom analizom nije pronađen niti jedan prediktor za postizanje mukoznog cijeljenja. Incidencija štetnih događaja s metotreksatom je bila nešto manja nego u skupini s tiopurinom. U raspravi o rezultatima su autori naznačili kako je ograničenje ovog istraživanja bio mali broj bolesnika podvrgnut endoskopskoj evaluaciji, tj. Endoskopski pregled je učinjen samo bolesnicima koji su postigli kliničku remisiju u 16. tjednu.<sup>75</sup>

Matsumoto i suradnici su proveli DIAMOND prospektivno, randomizirano istraživanje u kojem su uspoređivali monoterapiju adalimumabom s kombinacijom adalimumaba i azatioprina. Primarni cilj istraživanja bila je klinička remisija u 26. tjednu, a sekundarni endoskopska remisija u 26. i 52. tjednu. Po pitanju postizanja kliničke remisije rezultati su bili podjednaki u obje skupine, no endoskopska evaluacija je u 26. tjednu pokazala značajnije

poboljšanje stanja sluznice u skupini liječenih kombinacijom lijekova (izraženo kao SES-CD), tj. 84,2% ispitanika u odnosu na 63,8% liječenih monoterapijom ( $p = 0,019$ ). U 52. tjednu poboljšanje se nije razlikovalo u objema skupinama. U pogledu pojavnosti neželjenih događaja, incidencija je bila nešto veća u skupini tretiranoj kombiniranom terapijom, no većina njih je bila u ranoj fazi, dok je razina intolerancije azatioprina, prema istraživačima, bila u skladu s onom u zapadnjačkoj populaciji. Premda su rezultati pokazali da kombinacija nema prednost u postizanju kliničke remisije u odnosu na monoterapiju, u raspravi su istraživači potvrdili da kombinacija s azatioprinom donosi brže cijeljenje sluznice te, stoga, ipak pokazuje moguću korist ukoliko ju bolesnik tolerira.<sup>76</sup>

Vasudevan i suradnici su 2018. objavili retrospektivno istraživanje u kojem su u kohorte svrstali bolesnike s različitim kombinacijama imunosupresiva i anti-TNF terapije. Kombiniranim terapijama tretirano, kroz 3 ili više mjeseci, bilo je 269 bolesnika. Njih 77 je liječeno metotreksatom, 192 tiopurinima, 156 bolesnika infliksimabom, a 113 adalimumabom. Glavni cilj istraživanja bio je utvrditi endoskopsku remisiju. Rezultati su pokazali veću razinu endoskopske remisije u bolesnika liječenih tiopurinima, u odnosu na metotreksat unutar 12 mjeseci (58% u odnosu na 17%,  $p < 0,01$ ). Bolji endoskopski rezultati s tiopurinima dobiveni su u kombinaciji s adalimumabom nego infliksimabom. Multivarijatnom analizom je potvrđeno da su kombinacija s tiopurinima, postignuće terapijskih razina anti-TNF lijekova i viši polazni CRP bili prediktori dužeg trajanja kombinirane terapije (za svaki prediktor  $p < 0,05$ ).<sup>77</sup>

U 2018. godini objavljeno je i retrospektivno multicentrično istraživanje u 3 referentna centra u Kini, Francuskoj i Australiji koje je imalo za cilj pronaći korelaciju između razina 6-tiogvanin nukleotida i mukoznog cijeljenja u bolesnika liječenih azatioprinom. Kriterij za postizanje mukoznog cijeljenja bio je SES-CD manji od 3, kolonoskopija je bila obavljena najranije nakon barem 3 mjeseca od postizanja ciljne doze azatioprina, a mjerenje 6-TGN je bilo obavljeno unutar 3 mjeseca od kolonoskopije, uz uvjet da nije u tom razdoblju bilo promjena u doziranju azatioprina. Istraživanje je isključilo one bolesike koji su primali biološku terapiju za vrijeme uzimanja azatioprina. Ukupno je uključeno 119 bolesnika, u periodu nešto manjem od 4 godine. Nakon učinjene statističke analize je zaključeno da je razina 6-TGN od  $397 \text{ pmol}/8 \times 10^8$  eritrocita ili više povezana s postizanjem mukoznog cijeljenja (86,7% specifično za cijeljenje, osjetljivost niska (35,3%)) ( $p = 0,010$ ). Multivarijabilna analiza je utvrdila da su razine 6-TGN povezane s mukoznim cijeljenjem (OR = 3.287, 95% CI = 1.348-8.017,  $p = 0,009$ ), dok je kasno započinjanje liječenja azatioprinom u negativnoj korelaciji s cijeljenjem (OR = 0.972, 95% CI = 0.954-0.991,  $p = 0,004$ ). Prethodna istraživanja su pokazala

da razina 6-TGN povezana s kliničkim odgovorom na terapiju iznosi  $235 \text{ pmol}/8 \times 10^8$  eritrocita što je značajno manja razina od one povezane s mukoznim cijeljenjem. Istaknuto je i da je srednja razina dobivena analizom bila vrlo blizu razina povezanih s toksičnošću lijeka, no u ovom konkretnom istraživanju razine leukocita se nisu značajno razlikovale u grupi bolesnika koji su imali mukozno cijeljenje i onih koji to nisu postigli.<sup>78</sup>

## 6. RASPRAVA

Mukozno cijeljenje predstavlja stanje terapijskog postignuća sluznice bez ulceracija i znakova upale. Prema ECCO konsenzusu, ono doprinosi smanjenju potreba za hospitalizacijama i kirurškim zahvatima u bolesnika, što u konačnici donosi korist samom bolesniku u pogledu kvalitete života i tijeka bolesti, ali se pritom smanjuje i financijsko opterećenje zdravstvenog sustava. Mukozno cijeljenje povezano je s duljim trajanjem kliničke remisije te boljim ishodima u liječenju bolesti. Za Crohnovu bolest postoji evidentna razlika u načinu evaluacije mukoznog cijeljenja u odnosu na ulcerozni kolitis u činjenici što je teže naći adekvatnu dijagnostičku proceduru za kompletnu evaluaciju stanja sluznice, budući da bolest zahvaća čitavu stijenku probavne cijevi u raznim lokalizacijama.<sup>79</sup> Uz to, i sam koncept mukoznog cijeljenja još uvijek ima otvorenih pitanja. Osnovni problem kod evaluacije mukoznog cijeljenja je taj što još uvijek nema postignutog suglasja oko egzaktnih graničnih vrijednosti za kompletno mukozno cijeljenje, iako u tome pomažu CDEIS i SES-CD.<sup>60</sup> Zbog navedenih razloga postoji i problem evaluacije različitih istraživanja na temu cijeljenja sluznice u bolesnika liječenih azatioprinom. Naime, međusobno su se istraživanja razlikovala po kriterijima definicije mukoznog cijeljenja. Tako nisu svi istraživači koristili isti *score*, a i unutar istih bodovnih sustava granične vrijednosti za kriterije mukoznog cijeljenja su se razlikovale te se, stoga, ne mogu svi rezultati bez ograničenja uspoređivati u pogledu postizanja cijeljenja. Bitan aspekt u procjeni mukoznog cijeljenja svakako je i vremenski period u kojem se obavlja endoskopska evaluacija pacijenta. Sudeći po dosadašnjim iskustvima, optimalan period unutar kojega bi se mogao najadekvatnije procijeniti odgovor sluznice na terapiju je između 6 do 9 mjeseci od početka terapije.<sup>80</sup> Stoga period praćenja nije u svih bolesnika bio jednak, ili zbog različitog dizajna istraživanja (retrospektivno ili prospektivno istraživanje) ili nemogućnosti organiziranja endoskopske evaluacije u točno zadanom intervalu za sve bolesnike.

Početak 21. stoljeća se povećao interes za istraživanje učinkovitosti terapije u postizanju mukoznog cijeljenja. No, neka istraživanja nisu bila primarno fokusirana na mukozno cijeljenje, nego im je to bio jedan od definiranih sekundarnih ciljeva u istraživanju. Istraživanja Mantzarisa i suradnika te Laharieja i suradnika su uspoređivala učinke azatioprina u odnosu na budezonid odnosno metotreksat i infliksimab te su izvjestila o prilično dobrim rezultatima u stanju sluznice u bolesnika liječenih azatioprinom unutar sličnog perioda praćenja.<sup>70,72</sup> Istraživanje iz 2005. godine koje su proveli Lemann i suradnici u bolesnika dugotrajno liječenih azatioprinom pokazalo je da oko polovice bolesnika i dalje ima prisutne ulceracije na sluznici, što je manje od prije navedenih istraživanja.<sup>69</sup> Jedno od najpoznatijih istraživanja koja su se

bavila azatioprinom je SONIC istraživanje koje je od svih dotadašnjih imalo najstroži dizajn. Vrlo je vrijedno postignuće navedenog istraživanja činjenica da je u bolesnika u navedenoj kohorti provedena i TPMT genotipizacija, što nije bio slučaj u drugim istraživanjima. Nakon 26 tjedana, što je relativno sličan period ostalim istraživanjima, dokazano je da je monoterapija azatioprinom inferiorna u postizanju mukoznog cijeljenja u odnosu na infliksimab i kombiniranu terapiju. Dodatna korist azatioprina u kombinaciji s drugim lijekovima se može očitovati i u manjoj učestalosti pojave protutijela na lijek te većim serumskim koncentracijama infliksimaba<sup>43</sup>. *Post hoc* analiza je pokazala je da su u bolesnika koji su postigli mukozno cijeljenje verificirane veće serumske razine infliksimaba te da je duboka remisija izglednija kod kraćeg trajanja bolesti.<sup>81</sup> Multicentrično istraživanje koje je istraživalo korelaciju razina metabolita i postizanja mukoznog cijeljenja pokazalo je da su potrebne znatno više razine metabolita od onih za postizanje kliničke remisije, što govori u prilog tome da nije moguće kod svih sa simptomatskim poboljšanjem očekivati i normalno stanje sluznice.<sup>78</sup>

Unatoč vrijednim rezultatim dosadašnjih istraživanja o postizanju mukoznog cijeljenja uz terapiju azatioprinom, glavni prigovor je manjak optimizacije doze za pojedinog bolesnika što je vrlo bitan segment suvremenog, personaliziranog pristupa liječenju upalnih crijevnih bolesti. Isto tako je bitno standardizirati rezultate prema statusu TPMT genotipizacije bolesnika, pomoću koje je moguće izdvojiti osobe za koje je terapija štetna te one za koje bi prilagođenje doze bilo optimalnije. Implementacija navedenih pristupa bi u budućim istraživanjima trebala donijeti detaljnije i sveobuhvatnije rezultate analize optimiziranih strategija liječenja koje bi u konačnici bilo učinkovitije i sa smanjenim potencijalom razvoja nuspojava u bolesnika.

## 7. ZAKLJUČAK

Azatioprin se u dosadašnjim istraživanjima koja su proučavala mukozno cijeljenje pokazao kao relativno uspješan lijek za postizanje mukoznog cijeljenja u bolesnika s Crohnovom bolesti. Prevalencija mukoznog cijeljenja u bolesnika liječenih azatioprinom u istraživanjima se kretala od 16,5% pa do 83%, što govori u prilog činjenici da je azatioprin lijek kojim se može postići duboka remisija. Ovako široki raspon u prevalenciji je uzrokovan velikom raznolikosti u dizajnu istraživanja i definiranju ciljeva istraživanja. U bolesnika koji su imali pozitivan odgovor na liječenje azatioprinom u smislu postizanja mukoznog cijeljenja i duboke remisije, terapijska korist bila je značajna i za kvalitetu života i tijekom bolesti. Uz pažljivi personalizirani pristup liječenju bolesnika azatioprinom je moguće postići povoljan učinak na samu bolest. Potrebno je daljnje istraživanje ove teme provođenjem istraživanja fokusiranih primarno na mukozno cijeljenje kako bi se utvrdilo koliko suvremeni, personalizirani pristup u liječenju azatioprinom može dodatno poboljšati ishode liječenja bolesnika s Crohnovom bolesti.



## **8. ZAHVALE**

Zahvaljujem svojoj mentorici, profesorici Silviji Čuković-Čavki na predanom radu i pomoći u pisanju ovog diplomskog rada.

Velike zahvale idu i mojoj obitelji bez čije pomoći i podrške bi studij bio znatno teži.

Posebne zahvale te ujedno i posveta idu mom bratu Lukši, koji me nadahnuo da odaberem medicinu, te mojoj djevojci Marti Popović koja mi je cijelo vrijeme iznimna podrška i velika pomoć u svemu.

## 9. LITERATURA

1. Feuerstein JD, Cheifetz AS. Crohn Disease: Epidemiology, Diagnosis, and Management. *Mayo Clin Proc.* 2017;92(7):1088-1103.
2. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut.* 2006;55(6):749-753.
3. Burisch J, Jess T, Martinato M, Lakatos PL; ECCO -EpiCom. The burden of inflammatory bowel disease in Europe. *J Crohns Colitis.* 2013;7(4):322–337.
4. Burisch J, Pedersen N, Čuković-Čavka S, Brinar M, Kaimakliotis I, Duricova D, et al. East–West gradient in the incidence of inflammatory bowel disease in Europe: the ECCO-EpiCom inception cohort. *Gut* 2014;63:588-597.
5. Kappelman MD, Moore KR, Allen JK, Cook SF. Recent trends in the prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in a commercially insured US population. *Dig Dis Sci.* 2013;58(2):519-525.
6. Sonnenberg A. Age distribution of IBD hospitalization. *Inflamm Bowel Dis.* 2010;16(3):452-457.
7. Manichanh C, Borruel N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;9(10):599-608.
8. Galazzo G, Tedjo DI, Wintjens DSJ, Savelkoul PHM, Masclee AAM, Bodelier AGL, et al. Faecal Microbiota Dynamics and their Relation to Disease Course in Crohn's Disease. *J Crohns Colitis.* 2019;13(10):1273-1282.
9. Damjanov I, Seiwerth S, Jukić S, Nola M. (2014) Patologija, 4. izdanje, Medicinska naklada.
10. Bengtson MB, Solberg C, Aamodt G, Sauar J, Jahnsen J, Moum B et al. Familial aggregation in Crohn's disease and ulcerative colitis in a Norwegian population-based cohort followed for ten years. *J Crohns Colitis.* 2009;3(2):92-99.
11. Daniel C Baumgart, William J Sandborn. Crohn's disease. *Lancet* 2012; 380: 1590–1605
12. Feuerstein JD, Cheifetz AS. Crohn Disease: Epidemiology, Diagnosis, and Management. *Mayo Clin Proc.* 2017;92(7):1088-1103.
13. Ananthakrishnan AN, Higuchi LM, Huang ES, Khalili H, Richter JM, Fuchs CS, et al. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drug use, and risk for Crohn disease and ulcerative colitis: a cohort study. *Ann Intern Med.* 2012;156(5):350-359.

14. Mahid SS, Minor KS, Soto RE, Hornung CA, Galandiuk S. Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis [published correction appears in *Mayo Clin Proc.* 2007 Jul;82(7):890]. *Mayo Clin Proc.* 2006;81(11):1462-1471.
15. Higuchi, L.M., Khalili, H., Chan, A.T., Richter, J.M., Bousvaros, A., and Fuchs, C.S. A prospective study of cigarette smoking and the risk of inflammatory bowel disease in women. *Am J Gastroenterol.* 2012; 107: 1399–1406.
16. Veauthier B, Hornecker JR. Crohn's Disease: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician.* 2018;98(11):661-669.
17. Freeman HJ. Natural history and long-term clinical course of Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(1):31-36.
18. Chan WPW, Mourad F, Leong RW. Crohn's disease associated strictures. *J Gastroenterol Hepatol.* 2018;33(5):998-1008.
19. Truong A, Zaghayan K, Fleshner P. Anorectal Crohn's Disease. *Surg Clin North Am.* 2019;99(6):1151-1162.
20. Podugu A, Tandon K, Castro FJ. Crohn's disease presenting as acute gastrointestinal hemorrhage. *World J Gastroenterol.* 2016;22(16):4073-4078.
21. Bettenworth D, Bokemeyer A, Baker M, Mao R, Parker CE, Nguyen T, et al. Assessment of Crohn's disease-associated small bowel strictures and fibrosis on cross-sectional imaging: a systematic review. *Gut.* 2019;68(6):1115-1126.
22. Harb WJ: Crohn's disease of the colon, rectum, and anus. *Surg Clin North Am.* 2015;95(6):1195-210.
23. Fontana T, Falco N, Torchia M, Tutino R, Gulotta G. Bowel perforation in Crohn's Disease: correlation between CDAI and Clavien-Dindo scores. *G Chir.* 2017;38(6):303-312.
24. Freeman HJ. Tabulation of myeloid, lymphoid and intestinal malignancies in Crohn's disease. *Can J Gastroenterol.* 2002;16(11):779-784.
25. Kumar P, Clark M. *Clinical Medicine*, Ninth Edition. Elsevier. 2017
26. Chang S, Malter L, Hudesman D. Disease monitoring in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2015;21(40):11246-11259.
27. Sipponen T, Savilahti E, Kolho KL, Nuutinen H, Turunen U, Färkkilä M. Crohn's disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with Crohn's disease activity index and endoscopic findings. *Inflamm Bowel Dis.* 2008;14(1):40–46.

28. Mumolo MG, Bertani L, Ceccarelli L, Laino G, Di Fluri G, Albano E, et al. From bench to bedside: Fecal calprotectin in inflammatory bowel diseases clinical setting. *World J Gastroenterol*. 2018;24(33):3681–3694.
29. Maaser C, Sturm A, Vavricka SR, Kucharzik T, Fiorino G, Annese V, et al. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *J Crohns Colitis*. 2019;13(2):144-164.
30. Gomollón F, Dignass A, Annese V, Tilg H, Van Assche G, Lindsay JO, et al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 1: Diagnosis and Medical Management. *J Crohns Colitis*. 2017;11(1):3–25.
31. Keuchel M. Double balloon (push-and-pull) enteroscopy: breakthrough in the management of small intestinal strictures in Crohn's disease?. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2007;19(7):523-525.
32. Fletcher JG, Fidler JL, Bruining DH, Huprich JE. New concepts in intestinal imaging for inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2011;140(6):1795-1806.
33. Bruining DH, Siddiki HA, Fletcher JG, Tremaine WJ, Sandborn WJ, Loftus EV Jr. Prevalence of penetrating disease and extraintestinal manifestations of Crohn's disease detected with CT enterography. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(12):1701-1706.
34. Lee SS, Kim AY, Yang SK, Chung JW, Kim SY, Park SH, et al. Crohn disease of the small bowel: comparison of CT enterography, MR enterography, and small-bowel follow-through as diagnostic techniques. *Radiology*. 2009;251(3):751-761.
35. Moy MP, Sauk J, Gee MS. The Role of MR Enterography in Assessing Crohn's Disease Activity and Treatment Response. *Gastroenterol Res Pract*. 2016;2016:8168695.
36. Fiorino G, Bonifacio C, Peyrin-Biroulet L, Minuti F, Repici A, Spinelli A, et al. Prospective comparison of computed tomography enterography and magnetic resonance enterography for assessment of disease activity and complications in ileocolonic Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(5):1073-1080.
37. Calabrese E, Maaser C, Zorzi F, Kannengiesser K, Hanauer SB, Bruining DH, et al. Bowel Ultrasonography in the Management of Crohn's Disease. A Review with Recommendations of an International Panel of Experts. *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22(5):1168-1183.
38. Torres J, Bonovas S, Doherty G, Kucharzik T, Gisbert JP, Raine T, et al. ECCO Guidelines on Therapeutics in Crohn's Disease: Medical Treatment. *J Crohns Colitis*. 2020;14(1):4-22.

39. Cintolo M, Costantino G, Pallio S, Fries W. Mucosal healing in inflammatory bowel disease: Maintain or de-escalate therapy. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2016;7(1):1-16.
40. Peyrin-Biroulet L, Panés J, Sandborn WJ, Vermeire S, Danese S, Feagan BG, et al. Defining Disease Severity in Inflammatory Bowel Diseases: Current and Future Directions. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2016;14(3):348-354.e17
41. Lim WC, Wang Y, MacDonald JK, Hanauer S. Aminosalicylates for induction of remission or response in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;7(7):CD008870.
42. Lichtenstein GR, Loftus EV, Isaacs KL, Regueiro MD, Gerson LB, Sands BE. ACG clinical guideline: management of Crohn's disease in adults. *Am J Gastroenterol.* 2018;113(4):481-517.
43. Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rachmilewitz D, et al. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med.* 2010;362(15):1383-1395.
44. Swaminath A, Taunk R, Lawlor G. Use of methotrexate in inflammatory bowel disease in 2014: A User's Guide. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 2014;5(3):113-121.
45. Baert F, Noman M, Vermeire S, Van Assche G, D' Haens G, Carbonez A, et al. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med.* 2003;348(7):601-608.
46. Matsumoto T, Motoya S, Watanabe K, Hisamatsu T, Nakase H, Yoshimura N, et al. Adalimumab Monotherapy and a Combination with Azathioprine for Crohn's Disease: A Prospective, Randomized Trial. *J Crohns Colitis.* 2016;10(11):1259-1266.
47. Chebli JM, Gaburri PD, Chebli LA, da Rocha Ribeiro TC, Pinto AL, Ambrogini Júnior O, et al. A guide to prepare patients with inflammatory bowel diseases for anti-TNF- $\alpha$  therapy. *Med Sci Monit.* 2014;20:487-498.
48. Sands BE, Van Assche G, Tudor D, Akhundova-Unadkat G, Curtis RI, Tan T. Vedolizumab in Combination With Corticosteroids for Induction Therapy in Crohn's Disease: A Post Hoc Analysis of GEMINI 2 and 3. *Inflamm Bowel Dis.* 2019;25(8):1375-1382.
49. Danese S, Sandborn WJ, Colombel JF, Vermeire S, Glover SC, Rimola J, et al. Endoscopic, Radiologic, and Histologic Healing With Vedolizumab in Patients With Active Crohn's Disease. *Gastroenterology.* 2019;157(4):1007-1018.e7

50. Colombel JF, Sands BE, Rutgeerts P, Sandborn W, Danese S, D'Haens G, et al. The safety of vedolizumab for ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut*. 2017;66(5):839-851
51. Nitzan O, Elias M, Peretz A, Saliba W. Role of antibiotics for treatment of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2016;22(3):1078-1087.
52. Gionchetti P, Dignass A, Danese S, Magro Dias FJ, Rogler G, et al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 2: Surgical Management and Special Situations. *J Crohns Colitis*. 2017;11(2):135-149.
53. Singh S, Garg SK, Pardi DS, Wang Z, Murad MH, Loftus EV Jr. Comparative efficacy of pharmacologic interventions in preventing relapse of Crohn's disease after surgery: a systematic review and network meta-analysis. *Gastroenterology*. 2015;148(1):64-e14.
54. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. (2011) Temeljna i klinička farmakologija. Zagreb, Medicinska naklada.
55. Lennard L. Implementation of TPMT testing. *Br J Clin Pharmacol*. 2014;77(4):704-714
56. Dubinsky MC. Azathioprine, 6-mercaptopurine in inflammatory bowel disease: pharmacology, efficacy, and safety. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2(9):731-743.
57. Di Palma JA, Farraye FA. Crohn's disease: the first visit. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2011;7(3):163-169.
58. Fukunaga S, Kuwaki K, Mitsuyama K, Takedatsu H, Yoshioka S, Yamasaki H, et al. Detection of calprotectin in inflammatory bowel disease: Fecal and serum levels and immunohistochemical localization. *Int J Mol Med*. 2018;41(1):107-118.
59. Benitez JM, Meuwis MA, Reenaers C, Van Kemseke C, Meunier P, Louis E. Role of endoscopy, cross-sectional imaging and biomarkers in Crohn's disease monitoring. *Gut*. 2013;62(12):1806-1816.
60. Auzoux J, Boschetti G, Lahlou W, Aubourg A, Girault A, Lecomte T, et al. Assessment of Mucosal Healing in Inflammatory Bowel Disease. *J Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016, 1: 1.
61. Sostegni R, Daperno M, Scaglione N, Lavagna A, Rocca R, Pera A. Review article: Crohn's disease: monitoring disease activity. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003;17 Suppl 2:11-17.
62. Villanacci V, Antonelli E, Geboes K, Casella G, Bassotti G. Histological healing in inflammatory bowel disease: a still unfulfilled promise. *World J Gastroenterol*. 2013;19(7):968-978.

63. Panés J, López-Sanromán A, Bermejo F, García-Sánchez V, Esteve M, Torres Y, et al. Early azathioprine therapy is no more effective than placebo for newly diagnosed Crohn's disease. *Gastroenterology* 2013;145:766–74.e1.
64. Treton X, Bouhnik Y, Mary JY, Colombel JF, Duclos B, Soule JC, et al. Azathioprine withdrawal in patients with Crohn's disease maintained on prolonged remission: a high risk of relapse. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009;7(1):80-85.
65. Marinković G, Kroon J, Hoogenboezem M, Hoeben KA, Ruiters MS, Kurakula K, et al. Inhibition of GTPase Rac1 in endothelium by 6-mercaptopurine results in immunosuppression in nonimmune cells: new target for an old drug. *J Immunol.* 2014;192(9):4370-4378.
66. D'Haens G, Geboes K, Ponette E, Penninckx F, Rutgeerts P. Healing of severe recurrent ileitis with azathioprine therapy in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 1997;112(5):1475-1481.
67. D'Haens G, Geboes K, Rutgeerts P. Endoscopic and histologic healing of Crohn's (ileo-) colitis with azathioprine. *Gastrointest Endosc.* 1999;50(5):667-671.
68. Sandborn WJ, Van O EC, Zins BJ, Tremaine WJ, Mays DC, Lipsky JJ. An intravenous loading dose of azathioprine decreases the time to response in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 1995;109(6):1808-1817.
69. Lémann M, Mary JY, Colombel JF, Duclos B, Soule JC, Lerebours E, et al. A randomized, double-blind, controlled withdrawal trial in Crohn's disease patients in long-term remission on azathioprine. *Gastroenterology* 2005;128:1812-1818.
70. Mantzaris GJ, Christidou A, Sfakianakis M, Roussos A, Koilakou S, Petraki K, et al. Azathioprine is superior to budesonide in achieving and maintaining mucosal healing and histologic remission in steroid-dependent Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15(3):375-382.
71. Murakami Y, Matsui T, Hirai F, Takatsu N, Takaki Y, Nagahama T, et al. Efficacy of azathioprine in mild or moderate relapse in Crohn's disease: clinical and endoscopic evaluation. *Dig Endosc.* 2010;22(1):25-32.
72. Laharie D, Reffet A, Belleannée G, Chabrun E, Subtil C, Razaire S, et al. Mucosal healing with methotrexate in Crohn's disease: a prospective comparative study with azathioprine and infliximab. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;33(6):714-721.
73. Yu LF, Zhong J, Cheng SD, Tang YH, Miao F. Low-dose azathioprine effectively improves mucosal healing in Chinese patients with small bowel Crohn's disease. *J Dig Dis.* 2014;15(4):180-187.

74. Basaranoglu M, Ertan A, Mathew S, Najjar SM, Ala A, Demirbag AE, et al. Rate and Predictors of Endoscopic Mucosal Healing in Biologic Naive Patients with Inflammatory Bowel Disease by Azathioprine Treatment: A Real World, 10 Years' Experience from a Single Centre in Turkey. *J Gastrointest Dig Syst.* 2016;6(4):467.
75. Huang Z, Chao K, Li M, Zhi M, Tang J, Hu P, et al. Methotrexate for Refractory Crohn's Disease Compared with Thiopurines: A Retrospective Non-head-to-head Controlled Study. *Inflamm Bowel Dis.* 2017;23(3):440-447.
76. Vasudevan A, Raghunath A, Anthony S, Scanlon C, Sparrow MP, Gibson PR, et al. Higher Mucosal Healing with Tumor Necrosis Factor Inhibitors in Combination with Thiopurines Compared to Methotrexate in Crohn's Disease. *Dig Dis Sci.* 2019;64(6):1622-1631.
77. Mao R, Guo J, Lubner R, Chen BL, He Y, Zeng ZR, et al. 6-Thioguanine Nucleotide Levels Are Associated With Mucosal Healing in Patients With Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2018;24(12):2621-2627.
78. Shah SC, Colombel JF, Sands BE, Narula N. Systematic review with meta-analysis: mucosal healing is associated with improved long-term outcomes in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016;43(3):317-333.
79. Picco MF, Farraye FA. Targeting Mucosal Healing in Crohn's Disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2019;15(10):529-538.
80. Colombel JF, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rutgeerts P, Tang KL, et al. Randomised clinical trial: deep remission in biologic and immunomodulator naïve patients with Crohn's disease - a SONIC post hoc analysis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;41(8):734-746.



## **10. ŽIVOTOPIS**

Andro Dolić, rođen je 3.11.1995. u Zagrebu. Pohađao je Osnovnu školu Bartola Kašića. Godine 2010. je upisao XVI. gimnaziju u Zagrebu. Akademske godine 2014./2015. upisao je studij medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tečno govori engleski jezik, 4 godine je učio francuski jezik te godinu dana talijanski jezik.