

Azatioprin u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom

Azathioprine in the treatment of patients with ulcerative colitis

Franjo Barun, Dražen Zekanović, Neven Ljubičić*

Sažetak

Ulcerozni kolitis kronična je upalna bolest za koju su karakteristične ulceracije sluznice debeloga crijeva i klinički tijek obilježen razdobljima remisije i relapsa bolesti. Klinički se ulcerozni kolitis najčešće očituje učestalim sluzavo-krvavim proljevima. 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 tiopurin S-metiltransferaze i praćenjem metabolita tiopurina, uspješno se postiže optimizacija terapije. Time se poboljšava klinička djelotvornost liječenja, te sprječava neuspjeh liječenja uzrokovan štetnim nuspojavama azatioprina. Unatoč pretpostavkama da će u budućnosti, zbog razvoja učinkovitijih i sigurnijih lijekova, uloga tiopurina u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom biti ograničenija, azatioprin i dalje ostaje neizostavan lijek u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom.

Ključne riječi: ulcerozni kolitis, azatioprin, tiopurini, tiopurin S-metiltransferaza

Summary

Ulcerative colitis is a chronic inflammatory disease characterized by ulcerative lesions of the colon mucosa and clinical course characterized by periods of remissions and relapses. The most common clinical symptom of ulcerative colitis is frequent bloody diarrhea usually accompanied by mucus. 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 *thiopurine S-methyltransferase* together with thiopurine metabolites monitoring successfully lead to therapy optimization. Thus, improving clinical effectiveness of the therapy and preventing management failure from adverse effects. Despite assumptions that in future, due to the intensive development of more effective and safer medicaments, the role of thiopurines in the treatment of patients with ulcerative colitis will be more restricted, azathioprine still remains an unavoidable medicament in the treatment of patients with ulcerative colitis.

Key words: ulcerative colitis, azathioprine, thiopurines, *thiopurine S-methyltransferase*

Med Jad 2022;52(2):143-153

Uvod

Ulcerozni kolitis (UC) kronična je upalna bolest crijeva nepoznate etiologije koju dominantno karakteriziraju ulceracije sluznice debeloga crijeva.¹ Najčešće

se javlja u dobroj starosnoj skupini od 15 do 30 godina.² Klinički se ulcerozni kolitis najčešće očituje učestalim sluzavo-krvavim proljevima, a klinički tijek bolesti u većine je bolesnika obilježen razdobljima relapsa i remisije bolesti.³

* **Klinički bolnički centar „Sestre milosrdnice“**, Klinika za unutarnje bolesti, Zavod za gastroenterologiju i hepatologiju (Franjo Barun, dr. med.; prof. dr. sc. Neven Ljubičić, dr. med.); **Sveučilište u Zadru**, Odjel za zdravstvene studije i **Opća bolnica Zadar**, Služba za interne bolesti (izv. prof. dr.sc. Dražen Zekanović, dr. med.); **Medicinski i stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu** (prof. dr. sc. Neven Ljubičić, dr. med.)

Adresa za dopisivanje / *Correspondence address*: Prof. dr. sc. Neven Ljubičić, dr. med., Klinički bolnički centar „Sestre milosrdnice“, Klinika za unutarnje bolesti, Zavod za gastroenterologiju i hepatologiju, Vinogradska 29, 10000 Zagreb. E-mail: neven.ljubicic@kbcsm.hr

Primljeno/Received 2022-03-11; Ispravljeno/Revised 2022-03-26; Prihvaćeno/Accepted 2022-04-26

Metode

Kao izvor informacija za ovaj članak korišteno je trideset publikacija objavljenih tijekom proteklih trideset godina (u razdoblju od 1992. - 2022.). Relevantne publikacije pronađene su pretraživanjem baze podataka PubMed po barem jednoj od ključnih riječi: ulcerozni kolitis, azatioprin, tiopurini, tiopurin S-metiltransferaza.

Suvremena farmakoterapija ulceroznog kolitisa

Izbor medikamentnog liječenja ovisi o proširenosti i težini, odnosno aktivnosti bolesti, stanju bolesnika, odgovoru na prethodnu terapiju, te pridruženosti drugih bolesti.^{4,5} Valja napomenuti da se u posljednjih nekoliko desetljeća liječenje bolesnika s ulceroznim

kolitisom znatno promijenilo. Cilj liječenja više nije postizanje samo kliničke remisije, već i cijeljenje sluznice uz postizanje histološke remisije bolesti.^{6,7} U usporedbi s uporabom tiopurina, primjena tzv. bioloških lijekova i malih molekula pokazala se učinkovitijom i sigurnijom u dugoročnom liječenju bolesnika s umjerenim do teškim UC-om. Primjerice, sigurnosni profil vedolizumaba i ustekinumaba pokazao se boljim od sigurnosnog profila tiopurina. Zbog sve učestalije primjene novih terapijskih opcija u liječenju bolesnika s UC-om, postavlja se pitanje gdje je mjesto tradicionalnih imunomodulatora poput azatioprina (AZA) ili 6-merkatopurina u liječenju bolesnika s UC-om.⁷

Lijekovi koje danas koristimo u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Lijekovi koji se koriste u liječenju bolesnika s UC-om i njihovi mehanizmi djelovanja.⁸

Table 1 *Drugs used in the treatment of patients with ulcerative colitis and their mechanisms of action.*⁸

Skupina lijekova <i>Drug category</i>	Mehanizam djelovanja <i>Mechanism of action</i>	
Aminosalicilati <i>Aminosalicylates</i>	Protuupalno djelovanje: <i>Anti-inflammatory activity:</i>	<ul style="list-style-type: none"> – inhibicija sinteze prostaglandina <i>inhibition of the production of prostaglandins</i> – hvatanje slobodnih radikala <i>free radical trapping</i> – inhibicija ekspresije NF-κB <i>inhibition of NF-κB expression</i> – PPAR-γ agonisti <i>PPAR-γ agonists</i>
Kortikosteroidi <i>Corticosteroids</i>	Protuupalno djelovanje <i>Anti-inflammatory activity</i> Imunosupresivno djelovanje: <i>Immunosuppressive activity:</i>	<ul style="list-style-type: none"> – inhibicija proliferacije T-limfocita <i>inhibit proliferation of T-cells</i>
Tiopurini <i>Thiopurines</i>	Imunosupresivno djelovanje: <i>Immunosuppressive activity:</i>	<ul style="list-style-type: none"> – antimetaboličko djelovanje: inhibicija proliferacije T-limfocita blokiranjem replikacije DNA <i>anti-metabolic activity: inhibition of the proliferation of the T-cells by blocking DNA replication</i> – proapoptičko djelovanje: indukcija apoptoze T-limfocita inhibiranjem Rac 1 (mala GTPaza) <i>pro-apoptotic activity: induction of T-cell apoptosis by inhibiting the Rac 1 (a small GTPase)</i> – inhibicija <i>de novo</i> sinteze purina <i>inhibition of de novo purine synthesis</i>
Inhibitori kalcineurina <i>Calcineurin inhibitors</i>	Imunosupresivno djelovanje: <i>Immunosuppressive activity:</i>	<ul style="list-style-type: none"> – inhibicija aktivacije T-limfocita <i>inhibition of T-cell activation</i> – inhibicija kalcineurina i regulacija naniže ekspresije IL-2 <i>inhibition of calcineurin and down-regulation of IL-2 expression</i>

TNF- α antagonisti <i>TNF-α blockers</i>	Imunosupresivno djelovanje: <i>Immunosuppressive activity:</i>	– blokiranje TNF- α , NF- κ B, MAPK i inhibicija aktivacije imunskih stanica <i>TNF-α, NF-κB, and MAPK blocking and inhibition of immune cell activation</i> – inhibicija otpuštanja proinflammatory citokina <i>inhibition of the release of pro-inflammatory cytokines</i>
Antagonisti adhezijskih molekula <i>Adhesion molecules antagonists</i>	Imunosupresivno djelovanje: <i>Immunosuppressive activity:</i>	– inhibicija vezanja integrinskih molekula eksprimiranih na T-limfocitima za MAdCAM-1 adhezijsku molekulu na vaskularnom endotelu <i>inhibition of the binding of integrin molecules expressed on T-cells with MAdCAM-1 adhesion molecule present on the vascular endothelium</i>

Od lijekova koji su u fazi kliničkih ispitivanja, treba spomenuti IL23p19 antagoniste poput brazikumaba i mirkizumaba, specifične i selektivne inhibitore Janus kinaze, poput filgotiniba i upadacitiniba, anti-integrinske lijekove poput etrolizumaba, te modulatore sfingozin-1-fosfat receptora, kao što su ozanimod, te etrasimod.⁷

Klinički učinci tiopurina

Azatioprin, konvencionalni tiopurin, predlijeak je koji se u organizmu neenzimatskim putem, uz pomoć biogenih tiola, kao što je glutation, pretvara u merkaptopurin. Merkaptopurin se u organizmu može metabolizirati trima kompetitivnim putevima: ksantin-oksidadom ili aldehid oksidadom u tiouričnu kiselinu, metilacijom tiopurin S-metiltransferazom (TPMT) u inaktivni metabolit metilmerkaptopurin (MeMP), te nizom enzimatskih reakcija u metabolički aktivne tiogvaninske nukleotide (TGN).⁹ Prilikom replikacije DNA, inkorporirajući se u novostvoreni lanac DNA, oni zaustavljaju njezinu daljnju replikaciju, te na taj način sprječavaju proliferaciju brzodijelećih stanica, poput aktiviranih T-limfocita.^{9,10} Osim blokirajući replikaciju DNA, tiogvaninski nukleotidi smanjuju proliferaciju T-limfocita blokirajući *de novo* sintezu purina koji su potrebni za sintezu DNA i RNA. Oni također potiču apoptozu T-limfocita, te na taj način dodatno pojačavaju imunosupresijski učinak azatioprina.¹¹

Azatioprin i 6-merkaptopurin dva su najčešće korištena tiopurina u liječenju bolesnika s upalnom bolesti crijeva (IBD), a time i UC-a. Zbog sporog početka djelovanja, uočljivi učinci njihova djelovanja nastaju tek nakon 12-17 tjedana njihove kontinuirane primjene. Zbog navedenoga, tiopurini imaju specifičnu ulogu u liječenju bolesnika s upalnom bolesti crijeva, a to je ponajprije održavanje dugotrajne remisije.¹²

Naširoko korišteni tiopurini često su povezani s brojnim neželjenim učincima, a razumijevanje farma-

kogenetike i metaboličkog puta tiopurina može pomoći u individualnoj optimizaciji terapije, te posljedičnom postizanju veće sigurnosti i učinkovitosti liječenja.¹² Većina istraživača smatra da je uputno prekinuti terapiju tiopurinima najdulje nakon 5 godina. Liječenje u trajanju duljem 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 podaci o primjeni tiopurina u trudnoći i u razdoblju oko začeća.⁹

Učinkovitost tiopurina kao monoterapije u indukciji remisije

Malo je randomiziranih kontroliranih kliničkih ispitivanja koja pokazuju učinkovitost tiopurina kao monoterapije u indukciji remisije bolesti.⁷ Gisbert i suradnici¹³ metaanalizom su analizirali kliničke studije koje su dominantno uključivale bolesnike s glukokortikoid-zavisnim ili refraktornim tipom UC-a. Prema rezultatima navedene metaanalize, značajnije razlike u učinkovitosti između tiopurina i aminosalicilata, odnosno tiopurina i placeba u indukciji remisije, nije bilo. Valja napomenuti da je veliko ograničenje ove metaanalize bilo to što je u istraživanje bio uključen relativno mali broj bolesnika.

Učinkovitost tiopurina kao monoterapije u održavanju remisije

Premda tiopurini kao monoterapija nisu dokazano učinkoviti u postizanju remisije bolesti, više je ponajprije iskustvenih dokaza koji podupiru uporabu tiopurina kao terapije izbora u svrhu održavanja remisije u bolesnika u kojih je izostao ili se s vremenom smanjio povoljan terapijski učinak aminosalicilata, kao i u bolesnika s glukokortikoid-

ovisnim UC-om.⁷ Timmer i suradnici¹⁴ proveli su zbirnu analizu nekoliko istraživanja kojom je utvrđeno da je učinkovitost azatioprina znatno veća od učinkovitosti placeba u održavanju remisije, bez ili uz ograničenu primjenu glukokortikoida. Prema istraživanju Mate-Jimenez i suradnika,¹⁵ primjena 6-merkaptopurina pokazala se učinkovitijom u održavanju remisije od sulfasalazina. Pugliese i suradnici¹⁶ proveli su istraživanje nad bolesnicima s UC-om, pri čemu je medijan praćenja bio 36 mjeseci. Rezultati istraživanja pokazali su da je u gotovo 60% bolesnika postignuto cijeljenje sluznice, a u više od polovine postignuta klinička remisija bolesti bez primjene glukokortikoida. Prema retrospektivnom kohortnom istraživanju koje

su proveli Eriksson i suradnici,¹⁷ bolesnici koji su tolerirali tiopurine više od 12 mjeseci, imali su manji rizik od kolektomije, hospitalizacije, potrebe za korištenjem TNF- α antagonista i progresije bolesti. Prestanak korištenja azatioprina povezuje se s visokom stopom recidiva bolesti.⁷ Istraživanjima Hawthornea i suradnika,¹⁸ te Cassinotija i suradnika,¹⁹ dokazano je da je azatioprin korišten kao terapija održavanja remisije u bolesnika s UC-om, koristan najmanje dvije godine. Autori smatraju da ovdje navedeni podaci govore u prilog korištenja tiopurina kao terapije održavanja remisije.⁷

Podaci vezani uz navedena istraživanja prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Istraživanja vezana uz primjenu tiopurina kao monoterapije u održavanju remisije u bolesnika s UC-om.¹⁴⁻¹⁹

Table 2 Studies related to the use of thiopurine as monotherapy in maintaining remission in patients with UC.¹⁴⁻¹⁹

Autor, godina <i>Author, year</i>	Vrsta istraživanja <i>Study design</i>	Cilj <i>Objective</i>	Broj uključenih ispitanika <i>Number of patients included</i>	Rezultati istraživanja <i>Main study findings</i>	Zaključak <i>Conclusion</i>
Timmer et al. 2016.	Sistemski pregled literature	Procijeniti učinkovitost AZA-a u održavanju remisije u UC-u.	232 (4 studije)	45% (51/115) bolesnika koji su primali AZA nije uspjelo održati remisiju, u usporedbi s 65% (76/117) bolesnika koji su primali placebo.	AZA se pokazao znatno boljim naspram placeba u održavanju remisije.
<i>Timmer et al. 2016</i>	<i>Systematic literature review</i>	<i>To assess the effectiveness of AZA for maintenance of remission in UC.</i>	<i>232 (4 studies)</i>	<i>45% (51/115) of patients in the AZA group failed to maintain remission compared to 65% (76/117) of patients receiving placebo.</i>	<i>AZA was significantly superior to placebo for maintenance of remission.</i>
Sood et al. 2003.	Randomizirani kontrolirani klinički pokus	Usporediti učinkovitost azatioprina i sulfasalazina u održavanju remisije u teškom UC-u.	25	58% (7/12) bolesnika liječenih AZA-om nije uspjelo održati remisiju u usporedbi s 38% (5/13) liječenih sulfasalazinom.	Stopa recidiva UC-a veća je u bolesnika liječenih AZA-om u svrhu održavanja remisije, nego u bolesnika liječenih sulfasalazinom.
<i>Sood et al 2003</i>	<i>Randomised controlled trial</i>	<i>To compare effectiveness of azathioprine and sulfasalazine in maintenance of remission in severe UC.</i>	<i>25</i>	<i>58% (7/12) of AZA patients failed to maintain remission compared to 38% (5/13) of sulfasalazine patients.</i>	<i>The relapse rate of UC is higher in patients treated with AZA for maintenance of remission than in patients treated with sulfasalazine.</i>

Matejime- nez et al. 2000.	Randomi- zirani kontrolirani klinički pokus	Usporediti učinkovitost 6-merkaptopurina i 5- aminosalicilata u održa- vanju remisije u UC-u.	22	50% (7/14) bolesnika liječenih 6- merkaptopurinom nije uspjelo održati remisiju u usporedbi s 100% (8/8) liječenih 5-aminosalicilatima.	Bolesnici s UC-om liječeni 6-merkaptopurinom u svrhu održavanja remisije imaju veću stopu remisije od bolesnika liječenih 5- aminosalicilatima.
Matejime- nez et al. 2000	Randomised controlled trial	To compare effectiveness of 6-mercapto- purine and 5- aminosalicylate in mainte- nance of re- mission in UC.	22	50% (7/14) of 6-mercaptopurine patients failed to maintain remission compared to 100% (8/8) of 5- aminosalicylates patients.	The remission rate is higher in patients with UC treated with 6-mercaptopurine for maintenance of remission than in patients treated with 5-aminosalicylates.
Pugliese et al. 2018.	Retro- spektivno opservacijsko istraživanje	Procijeniti dugoročne ishode primjene tiopurina kao terapije održavanja remisije.	192	Remisija bez primjene steroida javila se u 45,3% bolesnika; 36,3% prestalo se liječiti tiopurinima zbog neuspjeha liječenja, a 18,2% zbog nuspojava ili intolerancije. Kumulativna vjerojatnost održavanja remisije bez primjene steroida bila je 87%, 76%, 67,6% i 53,4% nakon 12, 24, 36 i 60 mjeseci. Cijeljenje sluznice javilo se u 57% bolesnika nakon medijana od 18 mjeseci (u rasponu od 5-96). Manje od 20% bolesnika prestalo se liječiti tiopurinima zbog nuspojava ili intolerancije.	Tiopurini predstavljaju učinkovitu i sigurnu dugoročnu terapiju održavanja remisije u bolesnika s UC-om.
Pugliese et al. 2018	Retrospective observational study	To evaluate the long-term outcomes of thiopurines as remission maintenance therapy.	192	Steroid-free remission occurred in 45.3% of patients; 36.3% stopped thiopurines because of treatment failure and 18.2% for adverse events or intolerance. The cumulative probability of maintaining steroid-free remission while on thiopurine treatment was 87%, 76%, 67.6%, and 53.4% at 12, 24, 36, and 60 months. Mucosal healing occurred in 57.9% of patients after a median of 18 months (range 5–96). Less than 20% of patients discontinue therapy with thiopurines because of adverse effects or intolerance.	Thiopurines represent an effective and safe long-term remission maintenance therapy for UC patients.
Eriksson et al. 2019.	Retro- spektivno kohortno istraživanje	Procijeniti učinak tiopu- rina u odnosu na učestalost kolektomije, hospitaliza- cije, progresije opsega bolesti, te potrebe za liječenjem TNF- α anta- gonistima unutar 10 godina od početka liječenja.	253	Kumulativna vjerojatnost kolektomije unutar 10 godina bila je 19,5% u bolesnika koji su tolerirali tiopurine, u usporedbi s 29,0% koji nisu. Vjerojatnost hospitalizacije bila je 34,0% u bolesnika koji su tolerirali tiopurine, naspram 56,2% koji ih nisu tolerirali. Rizik od progresije opsega bolesti bio je 20,4% u bolesnika koji su tolerirali tiopurine, u usporedbi s 48,8% koji ih nisu tolerirali. Unutar 10 godina, 16,1% bolesnika koji su tolerirali i 27,5% koji nisu tolerirali tiopurine, primili su terapiju TNF- α antagonistima.	Terapija tiopurinima povezana je sa značajnim benefitima vezanima uz prirodni tijek UC-a, uključujući smanjenje rizika od kolektomije, hospitalizacije, progresije opsega bolesti, te potrebe za liječenjem TNF- α antagonistima.

Eriksson et al. 2019	Retrospective cohort study	To assess the effect of thiopurines in terms of incidence of colectomy, hospital admission, progression in disease extent and treatment with TNF- α antagonists within 10 years from therapy initiation.	253	The cumulative probability of colectomy within 10 years was 19.5% in tolerant patients compared with 29.0% in intolerant. The probability of hospital admission was 34.0% in tolerant versus 56.2% in intolerant patients. The risk for progression in disease extent was 20.4% in tolerant patients compared with 48.8% in intolerant. Within 10 years, 16.1% of tolerant and 27.5% of intolerant patients received TNF- α antagonists.	Thiopurine therapy is associated with significant benefits on the natural history of UC, including reduced risk of colectomy, hospital admission, progression in disease extent as well as need of TNF- α antagonists.
Hawthorne et al. 1992.	Randomizirani kontrolirani klinički pokus	Odrediti može li AZA prevenirati pojavu recidiva u ulceroznom kolitisu.	79 (67 bolesnika u remisiji i 12 sa stabiliziranom kroničnom bolešću)	Za grupu bolesnika u remisiji, jednogodišnja stopa recidiva bila je 36% (12/33) za bolesnike koji su nastavili primati azatioprin, te 59% (20/34) koji su primali placebo. U podskupini od 54 bolesnika u kojih je postignuta dugotrajna remisija (dulja od 6 mjeseci prije uključanja u istraživanje) benefit je još uvijek bio očit s 31%-tnom (8/26) stopom relapsa u bolesnika na azatioprinu, te 61%-tnom (17/28) u bolesnika na placebo. U maloj grupi bolesnika sa stabiliziranom kroničnom bolešću (šestero je bilo kortikosteroid ovisno, a šestero je imalo blage simptome) benefiti kontinuirane terapije azatioprinom nisu uočeni. Štetni učinci bili su minimalni.	Terapija održavanja remisije azatioprinom u UC-u korisna je najmanje dvije godine ako je bolesnik postigao remisiju uzimajući ga.
Hawthorne et al. 1992	Randomised controlled trial	To determine whether AZA can prevent relapse in ulcerative colitis.	79 (67 patients in remission and 12 with stable chronic disease)	For the remission group the one-year rate of relapse was 36% (12/33) for patients continuing azathioprine and 59% (20/34) for those taking placebo. For the subgroup of 54 patients in long term remission (greater than six months before entry to trial) the benefit was still evident, with a 31% (8/26) rate of relapse with azathioprine and 61% (17/28) with placebo. For the small group of patients with chronic stable colitis (six were corticosteroid dependent and six had low grade symptoms) no benefit was found from continued azathioprine therapy. Adverse events were minimal.	Azathioprine remission maintenance treatment in UC is beneficial for at least two years if patients have achieved remission while taking the drug.
Cassinotti et al. 2009.	Retro-spektivno opservacijsko istraživanje	Istražiti povezanost između kliničkih ishoda i njihovih prediktivnih čimbenika, nakon	127	Nakon prestanka liječenja AZA-om, u trećine bolesnika javio se recidiv unutar 12 mjeseci, u polovine unutar 2 godine i u oko dvije trećine unutar 5 godina. Nakon multivarijabilne analize, zaključeno je da su prediktori recidiva nakon prestanka liječenja AZA-om nepotpuno postizanje odgovora na terapiju održavanja remisije AZA-om,	Istraživanje ukazuje na to da je recidiv nakon prestanka liječenja AZA-om čest. Pojava recidiva unutar 4 do 5 godina nakon prestanka liječenja je gotovo

Cassinotti et al. 2009	Retrospective observational study	prestanka liječenja AZA-om u UC-u. <i>To investigate the connection between clinical outcomes and their predictive factors, with withdrawal of AZA in UC.</i>	127	ekstenzivni kolitis i trajanje liječenja, pri čemu se kratko liječenje (3-6 mjeseci) pokazalo nepovoljnijim u odnosu na liječenje u trajanju > 48 mjeseci. Prateći aminosalicilati bili su jedini prediktori postizanja remisije tijekom terapije AZA-om. Cjelokupna stopa kolektomije bila je 10%. Prediktori kolektomije bili su s lijekom povezana toksičnost kao uzrok prestanka liječenja AZA-om, odsutnost post-AZA liječenja, te trajanje liječenja. <i>After AZA withdrawal, a third of the patients relapsed within 12 months, half within 2 years and two-thirds within 5 years. After multivariable analysis, it was concluded that predictors of relapse after drug withdrawal had insufficient of response during AZA remission maintenance therapy, extensive colitis and treatment duration, with short treatments (3–6 months) more disadvantaged than > 48-month treatments. Concomitant aminosalicylates were the only predictors of sustained remission during AZA therapy. The overall colectomy rate was 10%. Predictors of colectomy were drug-related toxicity as the cause of AZA withdrawal, no post-AZA drug therapy, and treatment duration.</i>	sigurna (91%). Veliki opseg bolesti i kratko trajanje liječenja AZA-om čini se da povećavaju rizik od recidiva. S druge strane, prateća terapija 5-aminosalicilatima jedini je prediktivni čimbenik povezan s postizanjem remisije tijekom terapije AZA-om. <i>Study indicates that relapse after AZA withdrawal is common. Appearance of relapse within the 4 or 5 years after withdrawal is almost certain (91%). The great extent of the disease and short duration of AZA therapy appears to increase the risk of relapse. In contrast, concomitant 5-aminosalicylates therapy is the only predictive factor associated with a sustained remission to AZA therapy.</i>
------------------------	-----------------------------------	--	-----	---	---

Učinkovitost tiopurina u sklopu kombinirane terapije s infliksimabom

Randomizirano i kontrolirano kliničko ispitivanje Pannacionea i suradnika²⁰ pokazalo je da je bez primjene glukokortikoida kombinacija intravenski primijenjenog infliksimaba i peroralnog azatioprina, znatno učinkovitija u održavanju remisije, u bolesnika s umjerenim do teškim UC-om, nego primjena azatioprina ili infliksimaba u obliku monoterapije. Učinkovitost kombinirane terapije u odnosu na njezine štetne učinke potrebno je tek procijeniti. Primjena kombinirane terapije ili samo infliksimaba pokazala se učinkovitijom od samog azatioprina u postizanju cijeljenja sluznice. Bolesnici koji su primali azatioprin u obliku monoterapije, u većem su postotku razvili nuspojave u smislu hepatotoksičnosti u odnosu na bolesnike koji su bili liječeni kombiniranom terapijom ili samo infliksimabom.²⁰ Također, korisno je napomenuti da kombinirana terapija adalimumaba i

azatioprina nema jasno dokazanu prednost nad primjenom adalimumaba kao monoterapije.²¹

Veliki je broj dokaza koji podupiru istodobnu primjenu infliksimaba i tiopurina, ponajprije u smislu smanjenja imunogeničnosti, odnosno proizvodnje cirkulirajućih protutijela na spomenutog TNF- α antagonista.²² Pri opetovanu izlaganju infliksimabu, azatioprin inducira RAC1-om posredovanu T-staničnu apoptozu, te postupno briše memoriju T-staničnih klonova. Na taj način postupno se uklanja od prije stvoreni, memorirani odgovor na antigene infliksimaba. Rezultat toga smanjenje je titra protutijela na infliksimab i povišenje njegove koncentracije, te posljedično poboljšanja kliničkoga odgovora.²³

Optimizacija kliničkog odgovora na tiopurine

Metabolizam tiopurina izrazito je kompleksan, ne samo zbog višestrukih, međuovisnih biokemijskih

putova koji ga čine, a koji uključuju brojne metilacijske i fosforilacijske enzime, te enzime koji stvaraju aktivne i inaktivne metabolite, već i zbog znatnih interindividualnih, ponajprije genetskih razlika. Rezultat navedenoga velika je razlika među pojedinim bolesnicima u formaciji aktivnih i inaktivnih metabolita s posljedičnim neujednačenim odgovorom na liječenje, te rizikom od pojave teško predvidivih toksičnih nuspojava.²⁴ Posljedično, mjerenje koncentracije TGN-a, koji pružaju sumarnu sliku utjecaja epigenetskih i genetskih čimbenika na metabolizam tiopurina, zajedno s mjerenjem koncentracije inaktivnog metilmerkaptopurina, predstavlja najbolji način praćenja terapijskog učinka primijenjenog tiopurina.⁹ Nadalje, praćenje koncentracije metabolita tiopurina omogućuje poboljšanje ishoda liječenja putem optimizacije doze i procjene njihove potencijalne toksičnosti. Nasuprot tomu, konvencionalno doziranje na temelju tjelesne težine, za bolesnike liječene tiopurinima, netočno je i potencijalno nesigurno. To potvrđuju i rezultati istraživanja provedenog na 92 bolesnika s IBD-om, prema kojima je samo 29% bolesnika, liječenih doziranjem na temelju tjelesne težine, imalo tiogvanine unutar terapijskog opsega.²⁴

Mjerenje koncentracije tiogvanina vrši se u svih bolesnika sa simptomima ili aktivnom bolešću 4 tjedna nakon započinjanja terapije tiopurinima ili nakon mijenjanja doze.⁹ Za danu dozu, različiti bolesnici mogu imati subterapijske razine TGN-a, izolirani višak njihove proizvodnje, normalne razine TGN-a i MeMP-a, *shunting* s niskom ili normalnom razinom TGN-a i visokim MeMP-a ili subterapijske razine TGN-a i MeMP-a.²⁴

Terapijski opseg tiogvaninskih nukleotida između 235 pmol/8x10⁸ i 450 pmol/8x10⁸ eritrocita (Erc) u korelaciji je s dobrim kliničkim odgovorom. Ako je koncentracija TGN-a ispod terapijske razine, povišenjem doze trebalo bi se postići njihovo povišenje do unutar terapijskog raspona.⁹ U slučaju da se koncentracija tiopurina povećava iznad terapijskog opsega, proporcionalno se povećava i rizik od pojave mijelotoksičnosti. U dijela bolesnika tiopurini se preferentno metaboliziraju u MeMP, te u njih razina TGN-a ostaje ispod terapijskog opsega. Takvi bolesnici nazivaju se *shunterima*, te imaju veći rizik od pojave štetnih nuspojava i neuspjeha liječenja, pri čemu su koncentracije MeMP-a >5700 pmol/8x10⁸ eritrocita povezane s trostruko većim rizikom od pojave hepatotoksičnosti. Omjer MeMP-a i TGN-a veći od 20 mjerilo je prema kojem se bolesnici definiraju kao *shunteri*. Ono je više numeričko, nego biološko te je ovisno o dozi lijeka. Pojava *shunta* u metabolizmu tiopurina česta je pojava. Prema

istraživanju provedenom na preko 7000 bolesnika, incidencija *shuntinga* bila je 15%.²⁴ Njegov točan uzrok nije još do kraja razjašnjen, a vjerojatno je povezan s polimorfizmom enzima u metaboličkom putu tiopurina. Koterapija niskom dozom tiopurina i alopurinolom (LDTA terapija) pokazala se učinkovitom u smanjenju *shuntinga* te u usmjeravanju metabolizma tiopurina k proizvodnji TGN-a.²⁴ Rezultat njene primjene je, za sada nepotpuno razjašnjenim mehanizmima posredovano, smanjenje koncentracije MeMP-a i povišenje koncentracije TGN-a, te posljedično poboljšanje kliničkih ishoda.^{9,25} Također, u *shuntera* se, osim primjene koterapije niskom dozom tiopurina i alopurinolom, preporučuje se i podjela doze. Obrazloženje za podjelu doze leži u tome što dijeljenjem doze razina tiopurina ostaje ispod optimalnog supstratnog afiniteta za tiopurin S-metiltransferazu, te se tako izbjegava njihova metilacija. Prema istraživanju provedenom na 20 bolesnika, u kojih je koncentracija MeMP-a bila veća od 7000 pmol/8x10⁸ Erc, dijeljenje doze rezultiralo je znatnim smanjenjem koncentracije MeMP-a, bez smanjenja koncentracije TGN-a.⁹ Odabirom takvog načina liječenja u bolesnika koji preferentno metaboliziraju merkaptopurin u MeMP, minimizira se potreba za korištenjem steroida, bioloških lijekova, te kirurškim zahvatima.²⁶ Također, valja napomenuti da, prema jednom istraživanju (n = 30), trudnoća utječe na metabolizam azatioprina uzrokujući smanjenje razine TGN-a tijekom gestacije, uz povratak na normalnu razinu nakon poroda.²⁷

Neželjeni učinci tiopurina

Razvijeni su različiti protokoli liječenja bolesnika s ulceroznim kolitisom, čija je svrha uklanjanje neželjenih učinaka tiopurina. Primjerice, primjenom LDTA terapije postiže se remisija neželjenih učinaka tiopurina, osim pankreatitisa, u 78% bolesnika.⁹

Nadalje, provedena su mnoga istraživanja koja su nastojala utvrditi povezanost između genotipa AZA-metabolizirajućih enzima i pojavnosti toksičnih nuspojava (mijelotoksičnosti/hepatotoksičnosti), s ciljem smanjenja njihove učestalosti, odnosno utvrđivanja ispravnog doziranja tiopurina prema određenim genotipskim karakteristikama bolesnika. Zbog različite genetske distribucije, među pripadnicima različitih etničkih skupina dobiveni su različiti rezultati. Stoga, za pripadnike različitih rasa i regija doziranje tiopurina ne bi smjelo biti jednako.²⁸

Najproučavaniji geni su ITPA, TPMT i NUDT15. Prema rezultatima pojedinih istraživanja, mutacije ITPA gena nisu povezane s pojavom mijelosupresije. Rezultati drugih studija upućuju na to da je pojavnost

hepatotoksičnosti veća što je aktivnost tiopurin S-metiltransferaze veća, dok je pojava mijelosupresije veća u bolesnika s niskom aktivnošću TPMT-a, nastalom zbog homozigotne mutacije. Zbog navedenoga, preporučljivo je učiniti genotipizaciju TPMT gena prije početka liječenja tiopurinima.²⁸

Rezultati istraživanja provedenog na kineskim bolesnicima ukazuju na znatnu povezanost polimorfizma gena NUDT15 (415C > T), te epistatičke interakcije između alela ITPA (94C > A) i NUDT15 (415C > T) s pojavom AZA-inducirane mijelosupresije. Posljedično, polimorfizam NUDT15 (415C > T) smatra se prediktorom pojave AZA-inducirane

mijelosupresije u kineskih bolesnika, te je stoga, prije započinjanja liječenja azatioprinom, u njih preporučljivo učiniti genotipizaciju navedenih alela. Rizik od pojave mijelosupresije u homozigotnih nositelja mutacije gena NUDT (415C > T) pokazao se izrazito velikim, te se u takvih bolesnika preporučuje izbjegavanje primjene azatioprina tijekom liječenja.²⁸

Osim toga, valja napomenuti kako je nedavno otkriveno da je polimorfizam jednog nukleotida (rs264708) povezan s povećanim rizikom od pojave pankreatitisa u homozigotnih bolesnika.²⁴

Učestalosti pojedinih nuspojava na liječenje AZA-om u bolesnika s UC-om prikazane su u Tablici 3.

Tablica 3. Nuspojave liječenja AZA-om u bolesnika s UC-om, prema istraživanju Avallonea i sur.²⁹
Table 3 Side-effects of AZA treatment in UC patients, according to Avallone et al. study.²⁹

Nuspojave <i>Side-effects</i>	Broj <i>No</i>	Postotak bolesnika <i>Percentage of patients</i>
Leukopenija <i>Leukopenia</i>	29	58%
Pankreatitis <i>Pancreatitis</i>	3	6%
Hepatitis <i>Hepatitis</i>	7	14%
Povraćanje <i>Vomiting</i>	2	4%
Mučnina <i>Nausea</i>	3	6%
Alergijska reakcija <i>Allergic reaction</i>	2	4%
Urtikarija <i>Urticaria</i>	2	4%
Artralgiya <i>Arthralgia</i>	1	2%
Erythema nodosum <i>Erythema nodosum</i>	0	0%
Limfom <i>Lymphoma</i>	0	0%
Trombocitopenija <i>Thrombocytopenia</i>	1	2%
Bubrežna toksičnost <i>Renal toxicity</i>	0	0%
Sveukupno <i>Total</i>	50	100%

Neželjeni učinci u gastrointestinalnom sustavu

Mučnina je česta nuspojava 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 povećanjem 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.⁹

Neželjeni učinci na koštanu srž

Mijelosupresija se povezuje s niskom aktivnošću TPMT-a i s razinom MeMP-a $>11.450 \text{ pmol}/8 \times 10^8$ Erc. Kao i u pojave hepatotoksičnosti i hipermetilacije, u pojave mijelosupresije primjenjuje se LDTA terapija. Ako se pojavi leukopenija uz odsutnost hipermetilacije, potrebno je promijeniti dozu prema parametrima krvne slike.⁹

Hepatotoksičnost

Oko 4% bolesnika liječenih tiopurinima imati će pokazatelje hepatotoksičnosti. 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 $> 5700 \text{ pmol}/8 \times 10^8$ Erc, trostruko povećava rizik od nastanka hepatotoksičnosti. Dio bolesnika razvije hepatotoksičnost i u odsutnosti hipermetilacije. U većine bolesnika pojava hepatotoksičnosti može se spriječiti primjenom LDTA terapije.⁹

Pankreatitis

Nakon pojave pankreatitisa uzrokovanog tiopurinima, njihova daljnja primjena se ne preporučuje. Primjenom tiogvanina, alternativnog tiopurina, kao adekvatne zamjenske terapije, u dozi od 20-40 mg, sprječava se ponovna pojava pankreatitisa u 79% bolesnika tijekom godine dana.⁹ Prema podacima istraživanja koje je uključivalo 510 bolesnika s IBD-om, njih 37, odnosno 7,3%, razvilo je akutni pankreatitis, te je zbog toga liječenje azatioprinom prekinuto.³⁰

Zaključak

Zaključno, unatoč pretpostavkama da će razvoj učinkovitijih i sigurnijih lijekova ograničiti uporabu tiopurina, azatioprin i dalje ostaje nezaobilazan lijek u liječenju bolesnika s ulceroznim kolitisom. Praćenjem metabolita tiopurina, uz mjerenje, ponajprije aktivnosti TPMT-a, uspješno se postiže optimizacija terapije. Time se poboljšava klinička djelotvornost, liječenja te se sprječava neuspjeh liječenja uzrokovan neželjenim učincima azatioprina, što predstavlja klasični primjer benefita personalizirane medicine.

Literatura

1. Kaur A, Goggolidou P. Ulcerative colitis: Understanding its cellular pathology could provide insights into novel therapies. *J Inflamm.* 2020;17:1.
2. Yun J, Xu CT, Pan BR. Epidemiology and gene markers of ulcerative colitis in the Chinese. *World J. Gastroenterol.* 2009;15:788-803.
3. Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF. Ulcerative colitis. *Lancet.* 2017;389:1756-70.
4. Baumgart DC. The Diagnosis and Treatment of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Dtsch Arztebl Int.* 2009;106:123-33.
5. Rubin DT, Ananthakrishnan AN, Siegel CA, Sauer BG, Long MD. ACG Clinical Guideline: Ulcerative Colitis in Adults. *Am J Gastroenterol.* 2019;114:384-413.
6. Bryant R, Burger D, Delo J, et al. Beyond endoscopic mucosal healing in UC: histological remission better predicts corticosteroid use and hospitalisation over 6 years of follow-up. *Gut.* 2015;65:408-414.
7. Chhibba T, Ma C. Is there room for immunomodulators in ulcerative colitis?. *Expert Opin Biol Ther.* 2020;20:379-90.
8. Ahmad H, Kumar VL. Pharmacotherapy of ulcerative colitis - Current status and emerging trends. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2018;29:581-92.
9. 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;9:10-15.
10. Misdag M, Ziegler S, Von Ahnen N, Oellerich M, Asif AR. Thiopurines induce oxidative stress in T-lymphocytes: a proteomic approach. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:434825.
11. Maltzman JS, Koretzky GA. Azathioprine: old drug, new actions. *J Clin Investig.* 2003;111:1122-4.
12. 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.
13. Gisbert JP, Linares PM, McNicholl AG, Maté J, Gomollón F. Meta-analysis: the efficacy of azathioprine and mercaptopurine in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;30:126-37.
14. Timmer A, Patton PH, Chande N, McDonald JWD, MacDonald JK. Azathioprine and 6-mercaptopurine for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;(5):CD000478.
15. Mate-Jimenez J, Hermida C, Cantero-Perona J, Moreno-Otero R. 6-mercaptopurine or methotrexate added to prednisone induces and maintains remission in steroid-dependent inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2000;12:1227-33.
16. Pugliese D, Aratari A, Festa S, et al. Sustained Clinical Efficacy and Mucosal Healing of Thiopurine Maintenance Treatment in Ulcerative Colitis: A Real-Life Study. *Gastroenterol Res Pract.* 2018;2018:1-7.

17. Eriksson C, Rundquist S, Cao Y, Montgomery S, Halfvarson J. Impact of thiopurines on the natural history and surgical outcome of ulcerative colitis: a cohort study. *Gut*. 2019;68:623-32.
18. Hawthorne AB, Logan RF, Hawkey CJ, et al. Randomised controlled trial of azathioprine withdrawal in ulcerative colitis. *BMJ*. 1992;305:20-2.
19. Cassinotti A, Actis GC, Duca P, et al. Maintenance Treatment With Azathioprine in Ulcerative Colitis: Outcome and Predictive Factors After Drug Withdrawal. *Am J Gastroenterol* 2009;104:2760-7.
20. Panaccione R, Ghosh S, Middleton S, et al. Combination therapy with infliximab and azathioprine is superior to monotherapy with either agent in ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2014;146:392-400.
21. Colombel JF, Jharap B, Sandborn WJ, et al. Effects of concomitant immunomodulators on the pharmacokinetics, efficacy and safety of adalimumab in patients with Crohn's disease or ulcerative colitis who had failed conventional therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;45:50-62.
22. Hashash JG, Fadel CGA, Rimmani HH, Sharara AI. Biologic monotherapy versus combination therapy with immunomodulators in the induction and maintenance of remission of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Ann Gastroenterol*. 2021;34:612-624.
23. Ben-Horin S, Waterman M, Kopylov U, et al. Addition of an Immunomodulator to Infliximab Therapy Eliminates Antidrug Antibodies in Serum and Restores Clinical Response of Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11:444-7.
24. Wilson L, Tuson S, Yang L, Loomes D. Real-World Use of Azathioprine Metabolites Changes Clinical Management of Inflammatory Bowel Disease. *J Can Assoc Gastroenterol*. 2020;4:101-9.
25. Vasudevan A, Beswick L, Friedman AB, et al. Low-dose thiopurine with allopurinol co-therapy overcomes thiopurine intolerance and allows thiopurine continuation in inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis*. 2018;50:682-8.
26. Shih DQ, Nguyen M, Zheng L, et al. Split-dose administration of thiopurine drugs: a novel and effective strategy for managing preferential 6-MMP metabolism. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;36:449-58.
27. Lambert-Fliszar F, Bernatsky S, Kalache F, Grenier LP, Pineau CA, Vinet E. Personalised therapy during preconception and gestation in SLE: usefulness of 6-mercaptopurine metabolite levels with azathioprine. *Lupus Sci Med*. 2021;8:e000519.
28. Chen ZY, Zhu YH, Zhou LY, et al. Association Between Genetic Polymorphisms of Metabolic Enzymes and Azathioprine-Induced Myelosuppression in 1,419 Chinese Patients: A Retrospective Study. *Front Pharmacol*. 2021;12:672769.
29. Avallone EV, Pica R, Cassieri C, Zippi M, Paoluzi P, Vernia P. Azathioprine treatment in inflammatory bowel disease patients: type and time of onset of side effects. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18:165-70.
30. Teich N, Mohl W, Bokemeyer B, et al. Azathioprine-induced acute pancreatitis in patients with inflammatory bowel diseases-a prospective study on incidence and severity. *J Crohn's Colitis*. 2016;10:61-8.

