

## ENDEMSKA NEFROPATIJA U HRVATSKOJ

### ENDEMIC NEPHROPATHY IN CROATIA

BOJAN JELAKOVIĆ, ŽIVKA DIKA, SANDRA KARANOVIĆ, IVANA VUKOVIĆ LELA\*

**Deskriptori:** Endemska nefropatija – epidemiologija, etiologija, genetika, dijagnoza, patologija; Aristolohične kiseline – toksičnost; Karcinogene tvari iz okoliša – toksičnost; Izloženost okolišu – štetni učinci; Ureterni tumori – epidemiologija, etiologija, genetika, dijagnoza, patologija; Bubrežna kora – patologija; Tumor-supresorski protein p53 – genetika; Mutacija – genetika; Kineski biljni lijekovi – toksičnost; Hrvatska – epidemiologija

**Sažetak.** Endemska nefropatija (EN) kronična je tubulointersticijska nefropatija aristolohične kiseline (AAN) koja se javlja u stanovnika određenih sela u dolinama velikih pritoka Dunava na jugoistoku Europe uključujući i Hrvatsku. Oboljeli od EN-a imaju znatno veću učestalost karcinoma prijelaznog epitela mokraćovoda nego opća populacija. Danas se smatra da je A:T transverzija gena p53 »potpisna« mutacija za aristolohičnu kiselinu koja je uzrok endemske nefropatije. Postojeći kriteriji za EN su zastarjeli, neujednačeni (tri vrste kriterija) te nisu u skladu s novim preporukama za klasifikaciju bubrežnih bolesti. Stoga su na temelju sadašnjih znanja i stručnosti grupe znanstvenika i stručnjaka iz svih zemalja s EN-om, kao i svijeta u kojem je AAN opisan stvoreni novi dijagnostički kriteriji i nova klasifikacija stanovništva endemskih sela na simpoziju o EN-u. EN je velik javnozdravstveni problem pa bi nam sadašnja znanja o ovoj bolesti, kao i novi dijagnostički kriteriji trebali pomoći u njezinu ranom otkrivanju i liječenju, a možda u nekoj bližoj budućnosti i njezinoj eradikaciji.

**Descriptors:** Balkan nephropathy – epidemiology, etiology, genetics, diagnosis, pathology; Aristolochic acids – toxicity; Carcinogens, environmental – toxicity; Environmental exposure – adverse effects; Ureteral neoplasms – epidemiology, etiology, genetics, diagnosis, pathology; Kidney cortex – pathology; Tumor suppressor protein p53 – genetics; Mutation – genetics; Drugs, chinese herbal – toxicity; Croatia – epidemiology

**Summary.** Endemic nephropathy (EN) is a chronic tubulointerstitial aristolochic acid nephropathy (AAN) affecting residents of the certain villages in the valleys of the major tributaries of the Danube river in the south-east Europe including Croatia. Patients with EN have a significantly higher incidence of transitional cell carcinoma of the ureter than the general population. A-T transversion of the p53 gene is now considered to be a mutational »signature« of aristolochic acid, which is a cause of endemic nephropathy. Currently used diagnostic criteria for EN are outdated, uneven (three types of criteria) and are not in agreement with proposed new guidelines for kidney diseases. Therefore, based on current knowledge and expertise of a group of scientists and experts from all countries with EN as well as world where AAN has been reported, new diagnostic criteria and the new classification of the population of endemic villages were created at a symposium on EN. EN presents a major public health problem and current knowledge about this disease as well as new diagnostic criteria should help us in its early detection and treatment and maybe in a near future its eradication.

Liječ Vjesn 2015;137:100–108

Endemska nefropatija (EN), poznata još kao balkanska endemska nefropatija ili balkanska nefropatija bolest je koja desetljećima misteriozno privlači pozornost liječnika i znanstvenika te neupitno odnosi ljudske živote pustošeći brojna kućanstva. Službeni naziv endemska nefropatija prihvatila je Svjetska zdravstvena organizacija još 1964. godine kada su određeni i dijagnostički kriteriji koji se u modificiranom obliku rabe još i danas.<sup>1,2</sup> Prema tada prihvaćenoj definiciji EN je kronična tubulointersticijska nefropatija od koje oboljevaju zemljoradnici u selima smještenim u žarištima koja se nalaze u dolinama velikih pritoka Dunava na jugoistoku Europe u Bosni i Hercegovini, Bugarskoj, Hrvatskoj, Rumunjskoj i Srbiji, u području koje se politički označavalo kao Balkan. U Hrvatskoj je prvi put prepoznata 1959. godine, premda postoje klinički opisi i iz 1948. godine, a prema zapisima crkvenih knjiga bubrežna bolest bila je učestala i prije Drugoga svjetskog rata.<sup>3,4</sup> Prvo zahvaćeno selo koje se u Hrvatskoj spominje jest Slavonski Kobaš te se bolest u narodu zvala i kobaška bolest. U žarištima EN-a pogođena su određena sela, a ona u Hrvatskoj prikazana su na slici 1.

U susjednim selima nije opisana veća učestalost kronične bubrežne bolesti, a u samim endemskim selima nisu bila zahvaćena sva kućanstva. U nekim kućanstvima oboljevali su članovi raznih generacija izuzev djecu te krvni i nekrvni srodnici (tzv. crne kuće), dok su susjedna kućanstva bila posve pošteđena. Već je tada taj podatak upućivao na to da je važan vanjski etiološki čimbenik te da bolest nije primarno nasljedna iako genska predispozicija ima ulogu u ovoj bolesti budući da ne oboljevaju sve osobe izložene vanjskom čimbeniku. Osim opažanja s jednojajčanim blizancima ključni dokaz koliko su važni okolišni čimbenik i uvjeti

\* Zavod za nefrologiju, arterijsku hipertenziju, dijalizu i transplantaciju, Klinika za unutrašnje bolesti, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb (prof. dr. sc. Bojan Jelaković, dr. med.; dr. sc. Živka Dika, dr. med.; Sandra Karanović, dr. med.; Ivana Vuković Lela, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Prof. dr. sc. B. Jelaković, Zavod za nefrologiju, arterijsku hipertenziju, dijalizu i transplantaciju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb, Kišpatićeva 12, Zagreb, e-mail: jelakovic-bojan@gmail.com

Primljeno 13. srpnja 2014., prihvaćeno 12. siječnja 2015.



Slika 1. Endemsko žarište u Hrvatskoj  
Figure 1. Endemic focus in Croatia

života u određenom podneblju jest tzv. prvi prirodni pokus s Ukrajinacima.<sup>3</sup> Naime, prije stotinjak godina, nakon revolucionarnih previranja u carskoj Rusiji u ovo su se područje naselili Ukrajinci. Oni koji su se naselili u endemsko područje i prihvatili način života autohtonog stanovništva oboljevali su jednakom učestalošću kao i starosjedioci. Oni koji su se naselili izvan endemskih sela nisu oboljevali češće od kronične bubrežne bolesti nego u općoj populaciji. Osim toga EN nije nikada zabilježen u Ukrajinaca koji su nastavili živjeti u Ukrajini.

Prevalencija oboljelih od EN-a u prosjeku je oko 5%, a broj sumnjivih da boluju kreće se od 10 do 15%.<sup>3,5,6</sup> Žene oboljevaju nešto češće iako je to vrlo vjerojatno lažno pozitivan nalaz jer veći broj muškaraca prije nego što obole od kronične bubrežne bolesti umire od neke kardiovaskularne bolesti. Bolest nije nikada opisana u djece, već samo u osoba starijih od 18 godina, što upućuje na nužnost duge izloženosti vanjskom čimbeniku. Prema nedavno provedenim epidemiološkim studijama EN je i dalje prisutan u svim žarištima.<sup>5,7,8</sup> Najnoviji rezultati naših istraživanja pokazuju tendenciju opadanja prevalencije te u nekim endemskim selima nismo registrirali više nijednog oboljelog.<sup>9</sup> U svim endemskim žarištima uočen je u oboljelih, onih koji počinju liječenje dijalizom te sumnjivih da boluju od EN-a pomak prema starijoj dobi.<sup>6,8</sup> Ovi podaci pobuđuju sumnju da vanjski etiološki čimbenik više nije prisutan ili da više nije aktivan, odnosno da više ne dovodi do kronične bubrežne bolesti i karcinoma prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava. Ta hipoteza o padu izloženosti i posljedičnom smanjivanju broja oboljelih potvrđena je u istraživanjima koja smo proveli s imigrantima iz Bosne, što će biti poslije navedeno. Dijagnoza EN-a postavlja se i danas većinom na temelju modificiranih kriterija SZO-a (tablica 1.).<sup>2</sup> Posebna osobitost EN-a jest vrlo velika učestalost karcinoma prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava.<sup>10-13</sup> Specifični mortalitet od tih karcinoma u endemskom kraju 55 puta je veći nego u drugim dijelovima Hrvatske i svijeta.<sup>13</sup> U EN-u zahvaćena su dakle dva ciljna tkiva – stanice proksimalnog tubula, kao prvo mjesto oštećenja, i stanice prijelaznog epitela mokraćnog sustava. Zahvaćanje stanica proksimalnog tubula u konačnici dovodi do intersticijske fibroze, kroničnoga bubrežnog zatajenja i potrebe za bubrežnim na-

Tablica 1. Modificirani kriteriji SZO-a za endemsku nefropatiju (EN)  
Table 1. Modified WHO criteria for endemic nephropathy

I. Bolesni/oboljeli od EN-a/ Diseased	II. Sumnjivi da boluju od EN-a/ Suspected of having EN
1. Pozitivna obiteljska anamneza za EN/ Positive family history of EN + tubularna proteinurija/ tubular proteinuria <sup>1</sup> + azotemija <sup>2</sup> /azotemia <sup>2</sup> + anemija <sup>3</sup> /anemia <sup>3</sup> + isključenje drugih bubrežnih bolesti/ exclusion of other kidney diseases ILI/OR	1. Pozitivna obiteljska anamneza za EN + tubularna proteinurija/ tubular proteinuria <sup>1</sup> ILI/OR
2. Tubularna proteinurija/ Tubular proteinuria + azotemija <sup>2</sup> /azotemia <sup>2</sup> + anemija <sup>3</sup> /anemia <sup>3</sup> + isključenje drugih bubrežnih bolesti/ exclusion of other kidney diseases ILI/OR	2. Tubularna proteinurija/ Tubular proteinuria + anemija <sup>3</sup> /anemia <sup>3</sup>
3. Pozitivna obiteljska anamneza za EN/ Positive family history of EN + tubularna proteinurija/ tubular proteinuria <sup>1</sup> + anemija <sup>3</sup> /anemia <sup>3</sup> + isključenje drugih bubrežnih bolesti/ exclusion of other kidney diseases	
III. Rizični/At risk	IV. Ostali/Others
1. Pozitivna obiteljska anamneza za EN/ Positive family history of EN	

<sup>1</sup> tubularna proteinurija ( $\alpha$ 1 mikroglobulinurija > 10 mg/L ili > 14 mg/g kreatinina)/ tubular proteinuria ( $\alpha$ 1 microglobulinuria > 10 mg/L or > 14 mg/g creatinine)

<sup>2</sup> kreatinin u serumu > 132,6  $\mu$ mol/L/ serum creatinine > 132,6  $\mu$ mol/L

<sup>3</sup> hemoglobin < 120 g/L za muškarce, < 113 g/L za žene/ hemoglobin < 120 g/L for men, < 113 for women

domjesnim liječenjem. Zahvaćenost stanica prijelaznog epitela mokraćnog sustava dovodi do nastanka karcinoma. Geografske osobitosti te prisutnost dviju inače rijetkih bolesti, kronične intersticijske nefropatije i karcinoma prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava, upućuju na zajednički etiološki čimbenik. Našim epidemiološko-molekularnim istraživanjima potvrđeno je da je balkanska endemska nefropatija jedan od oblika nefropatije aristolihične kiseline.

### Odbačene etiološke hipoteze

Tijekom proteklih 50-ak godina testirane su brojne hipoteze koje su se mogle dovesti u vezu s ovom toksičnom nefropatijom. Tako su redom odbačene ove teorije: teški metali, virusi, mrki ugljen, imunosni poremećaji i nasljeđe. U kritičkoj evaluaciji okolišnih čimbenika koji bi mogli biti uzrok endemske nefropatije Voice i suradnici su kao važne izdvojili aristolohičnu kiselinu i okratoksin A.<sup>14</sup>

Posebnu pozornost izazvao je okratoksin A, mikotoksin koji je nekoliko desetljeća bio u središtu istraživačkog interesa. Okratoksin A doveden je u vezu s EN-om jer je opisana povezanost tog mikotoksina s bubrežnom bolešću svinja.<sup>15</sup> Usto često je registriran u hrani endemskih seljaka, kao i u krvi osoba koje žive u endemskim selima.<sup>16,17</sup> No, okratoksin A nije ograničen na Balkan te je prisutan u hrani diljem svijeta i do sada nema dokaza o nefrotoksičnosti ili karcinogenosti u ljudi.<sup>18</sup> Prosječna koncentracija okratoksina A bila je znatno viša u kroničnih bubrežnih bolesnika u Italiji, Turskoj i Tunisu nego u zdravih ispitanika te je zaključeno da je akumulacija okratoksina A posljedica kronične bubrežne bolesti, a ne njezin uzrok.<sup>18-21</sup> To vjerojatno vrijedi i za opažanja o EN-u. Prosječna koncentracija okratoksina A u raznim zemljama Europske unije nije različita od koncentracije određene u Hrvatskoj.<sup>18</sup> Osim toga postoji znatno preklapanje koncentracije okratoksina A između endemskih i neendemskih regija.<sup>18,22</sup> Najviša izmjerena količina okratoksina A u EN-u određena je u krvi dvoje stanovnika bugarskog endemskog žarišta i iznosila je oko 92 ng/kg tjelesne mase na tjedan, što je znatno manje od dopuštene tjedne količine od 120 ng/kg tjelesne mase na tjedan.<sup>17</sup> Temeljem svih ovih činjenica Povjerenstvo za sigurnost hrane Europske unije zaključilo je 2005. godine da nema čvrstih dokaza na temelju provedenih istraživanja o povezanosti okratoksina A i EN-a.<sup>18</sup> Budući da ne postoje dokazi o toksičnosti okratoksina A u ljudi, Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) klasificirala je okratoksin A u kategoriju 2B koja ostavlja mogućnost karcinogenosti u ljudi, za što do sada, međutim, nema dokaza. U kategoriju 2B ulaze stvari za koje ili postoje ograničeni dokazi o karcinogenosti u ljudi i nedovoljno dokaza u eksperimentalnih životinja, ili nedovoljno dokaza za karcinogenost u ljudi, dok je ona dokazana kod eksperimentalnih životinja, ili nema dovoljno dokaza kod ljudi i eksperimentalnih životinja, ali postoje mehanistički eksperimentalni modeli ili drugi relevantni podaci. Okratoksin A pripada podskupini gdje ne postoje dostatni dokazi o karcinogenosti u ljudi, dok je ona ustanovljena kod eksperimentalnih životinja.<sup>23</sup>

Prema dosadašnjim spoznajama i rezultatima okratoksin A nije uzročni čimbenik EN-a i karcinoma povezanih s njime. Ipak, njegova nefrotoksičnost i povezanost s nastankom tumora (bubrega, jetre) dokazana je u svim eksperimentalnim životinjskim modelima. Poznato je da je okratoksin A široko rasprostranjen u hrani, što rezultira vrlo vjerojatnom ljudskom izloženošću ovom toksinu. Premda su postojeći podaci dosadašnjih studija okratoksina A u ljudi nejasni i nedovoljni, ipak ostaje mogućnost povezanosti okratoksina A s bubrežnom bolešću i karcinomima, neovisnim o EN-u, što, međutim, treba dokazati znanstvenim istraživanjima.

### Aristolohična kiselina i bubrežna bolest

Aristolohična kiselina (AA) generički je naziv za nitrofenantrenske ugljične kiseline. AA je kombinacija dviju nitrofenantrenskih ugljičnih kiselina, aristolohične kiseline I (AA I) i aristolohične kiseline II (AA II). Obje se kiseline

metaboliziraju u izloženih osoba i u većine se izlučuju kao inertni neaktivni metaboliti. U predisponiranih osoba metabolit aristolaktam, tj. njegov reaktivni neutronsni oblik kovalentno se veže za purinske baze (adenin, gvanin). Na temelju provedenih eksperimenata uočeno je da je AA I ključna za promjene do kojih dolazi u bubrežnom tkivu.<sup>24-29</sup> Dva su ciljna tkiva podložna djelovanju AA: bubrežni korteks, posebno proksimalni bubrežni tubul (nastanak intersticijske fibroze i kroničnoga bubrežnog zatajenja) te prijelazni epitel gornjeg dijela mokraćnog sustava (nastanak uroepitelnih karcinoma).<sup>30</sup> Dakle, upravo ona tkiva koja su već opisana kao ciljna u EN-u.

Za razliku od okratoksina A aristolohična je kiselina prema IARC klasifikaciji svrstana u skupinu 1, dakle, kao ljudski karcinogen.<sup>31,32</sup>

U ljudi je dokazana prisutnost deoksiadenozin-aristolaktamskih i deoksigvanozin-aristolaktamskih adukata.<sup>33,34</sup> Najčešći, dominantni i najduže u organizmu prisutan (kovalentna veza) jest deoksiadenozin-aristolaktam I koji je i odgovoran za većinu mutagenih i karcinogenih svojstava AA. Budući da u organizmu mogu biti prisutni cijeli život, AA adukti su pouzdan biomarker prijašnje izloženosti AA.<sup>35</sup>

AA je dokazano mutagena u bakterija, u kulturama stanica; *in vivo* izloženim glodavcima te u osoba s karcinomima prijelaznog epitela. Predominantni tip mutacije jest A:T→T:A transverzija.<sup>34,36,37</sup> U ljudi spomenuta promjena karakteristično se događa na tumorsupresorskom genu p53. Ovaj tip mutacije gena p53 registriran je u oko 70% bolesnika s karcinomima prijelaznog epitela povezanim s EN-om.<sup>25</sup> Nasuprot tomu, prema međunarodnoj IARC bazi p53 mutacija, navedena je mutacija prisutna u oko 5% svih ostalih slučajeva uroepitelnih karcinoma zabilježenih u svijetu.<sup>38</sup> Danas se smatra da je A:T transverzija p53 »potpisna« mutacija za AA.

Pravci od biljaka roda *Aristolohija* tisućljećima su se rabili u tradicionalnoj medicini Kine, Japana, Indije i drugih država Azije i cijeloga svijeta. Hipokrat i drugi liječnici koji su utrljali put tzv. klasičnoj zapadnjačkoj medicini bili su svjesni njihovih potencijalno korisnih svojstava, ali ne i toksičnih.<sup>39-44</sup>

Povezanost AA i bubrežne bolesti u Hrvatskoj počinje u veterinarskoj medicini kada su Dumić i Martinčić opisali osobitosti bubrežne bolesti u konja hranjenih (slučajno) aristolohijom.<sup>45,46</sup> Premda se opažanja na životinjama ne smiju i ne mogu jednostavno ekstrapolirati na bolesti ljudi, pozornost privlače neobično velika podudarnost bolesti tih konja s EN-om počevši od epidemiologije – spol, dob ili pasmina nisu bili predisponirajući čimbenici; učinka ovisnog o dozi, tj. količini pojedinih biljaka; i na kraju genskoj predispoziciji jer nisu svi konji koji su jeli korov latinskog imena *Aristolochia clematitis* oboljeli, što upućuje na vjerojatno postojanje genskog polimorfizma u konja. Klinički su konji imali znakove tubulopatije – polakisuriju, poliuriju, hipotenziju, što upućuje na nefropatiju zbog gubitka soli. Urin je bio malene specifične težine, a sediment oskudan, što su sve obilježja EN-a u ljudi. Konačno, patohistološki nalaz potvrdio je da je riječ o toksičnoj tubulopatiji s izrazitim fibrozom i očuvanim glomerulima koju je Martinčić opisao kao *nephrosis chronica scleroticans*.<sup>45</sup> Konji su vjerojatno prekratkotro živjeli da bi im se razvio karcinom kao što je prije tri i više desetljeća bio slučaj i s ljudima oboljelim od EN-a koji su umirali od uremije prije nego što bi karcinom postao manifestan. Toksičnost aristolohije za konje opisana je i u Srbiji.<sup>47</sup>

Prvu poveznicu aristolohije s EN-om u humanoj medicini opisao je profesor Milenko Ivić iz Niša i objavio 1969. go-



Tablica 2. Obilježja endemske nefropatije (EN) i nefropatije aristolohične kiseline (AAN)  
 Table 2. Characteristics of endemic nephropathy (EN) and nephropathy of aristolochic acid nephropathy (AAN)

	Doza AA/ Dose of AA	Klinički tijek bubrežne bolesti/ Clinical course of kidney disease	% oboljelih od svih izloženih/ % of diseased of all exposed	Karcinomi urotela/ Urothelial cancer	Jačina fibroze/ Fibrosis severity	Celularnost/ Celularity	Kortikomedularni gradijent/ Cortical-medullary gradient
AAN	visoka doza u kratkom vremenu/ high dose in short period	Akutni, brzoprogresivni/ Acute progression	5%	40–46%	+++	–	+
EN	niža doza u duljem razdoblju/ low dose in longer period	Kronični, spori razvoj/ Chronic progression	5%	41%	+++	–	+

Legenda/Legend: AA – aristolohična kiselina/aristolochic acid

dine u Liječničkom vjesniku.<sup>48</sup> Ivić je, doselivši se iz Vojvodine u endemsko žarište pokraj Niša, uočio da su neka žitna polja u endemskom žarištima izrazito kontaminirana korovom koji nikada do tada nije vidio u poljima kukuruza u Vojvodini. Nadalje, registrirao je da seljaci nisu bili svjesni toksičnosti korova (*Aristolochia clematitis*) te da su sjemenke korova mljeli zajedno sa sjemenkama žita. Već je tada zaključio da je očito kruh tih seljaka bio otrovan. Ivić je napravio *in vitro* pokus s kunićima koje je hranio brašnom dobivenim od sušenih sjemenki *Aristolochiae clematitis*.<sup>49</sup> Nakon histološke analize bubrega tih kunića uočio je da su promjene najizrazitije u vanjskom dijelu korteksa s degenerativnim promjenama u tubulima i intersticiju uz očuvane glomerule. Zaključio je da ove promjene potpuno odgovaraju promjenama karakterističnim za EN. Nažalost, sljedeća gotovo četiri desetljeća nije bilo nijednog pokušaja dokazivanja i potvrđivanja (ili čak znanstveno utemeljenih odbacivanja) ovih vrijednih Ivićevih rezultata i zaključaka. Tek su naši rezultati potvrdili da je Ivić bio u pravu. No, našim istraživanjima prethodila je tragedija velikog broja žena slučajno izloženih aristolohičnoj kiselini u Belgiji.<sup>50</sup>

### Nefropatija kineskih trava kao ključ za endemsku nefropatiju i smjerokaz našim istraživanjima

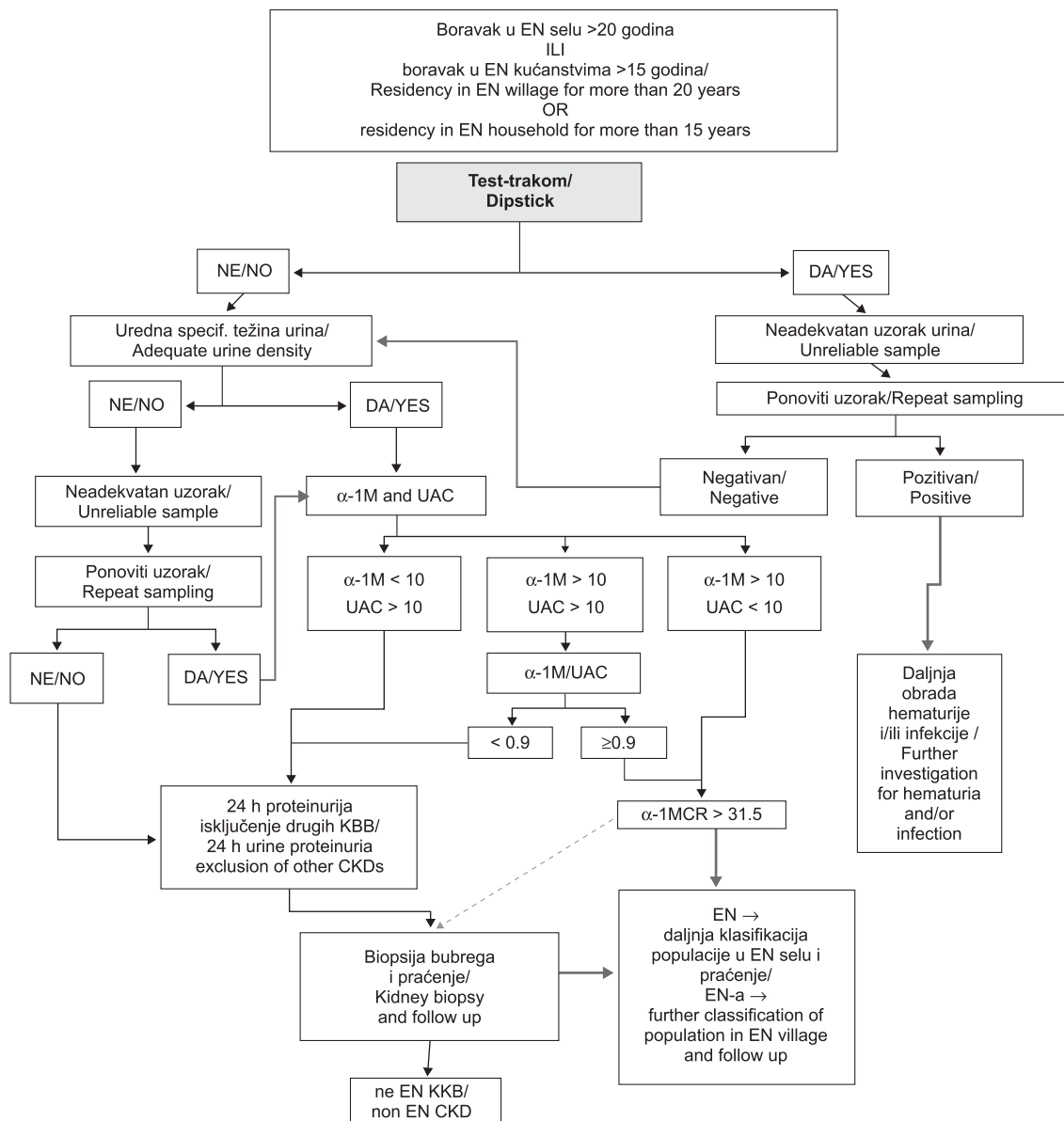
Belgijski patolog Cosyns i suradnici prvi su uočili sličnost patohistološkog nalaza nefropatije kineskih trava, tj. nefropatije aristolohične kiseline i EN-a: hipocelularnost, smanjivanje intenziteta intersticijske fibroze i drugih promjena tubula od korteksa prema meduli uz očuvane glomerule, što je tada upućivalo da bi se moglo raditi o istom entitetu.<sup>51</sup> Taj obrazac nije patognomoničan za nefropatiju aristolohične kiseline, dakle za EN, nego je prisutan i u kadmijskoj nefropatiji, kroničnom otrovanju olovom i kroničnoj nefropatiji presatka.<sup>52</sup> Međutim, jedino u nefropatiji kineskih trava i EN-u, tj. u nefropatiji aristolohične kiseline uz ovakav patohistološki nalaz u velikom broju bolesnika prisutni su i karcinomi prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava.

Vanherweghem je 1993. godine opisao prve slučajeve nefropatije kineskih trava od koje su oboljele desetine žena liječene desetljećima do tada »pouzdanim i neškodljivim« tretmanima mršavljenja u poznatoj briselskoj klinici.<sup>50</sup> Naime, 1990. godine netko je želio unaprijediti dobro etabliranu formulu biljnog pripravka dodavanjem pripravaka napravljenih od *Magnoliae officinalis* i *Stephaniae tetrandrae*. No, zbog nerazumijevanja kineske farmakopeje (Pin Yin) umjesto *Stephaniae tetrandrae* (Han Fang Ji), biljke koja

ima diuretska svojstva, dakle poželjna je za brz gubitak tjelesne mase i stjecanje dojma mršavljenja, dodana je *Aristolochia fangchi* (Guang Fang Ji), izrazito nefrotoksična i karcinogena biljka.<sup>53</sup> Poslije je u gotovo polovici oboljelih žena dijagnosticiran karcinom prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava.<sup>54</sup> Nisu sve izložene žene oboljele, nego njih oko 5%, što odgovara prevalenciji EN-a i upućuje na isti genski polimorfizam. Muniz Martinez i sur. odredili su u belgijskih žena dozu AA koja je bila potrebna da se razviju kronična bubrežna bolest, terminalni stadij karcinom.<sup>55</sup>

Oboljeli od EN-a mogli su unijeti tijekom 10 – 15 godina identičnu količinu toksina ako bi samo jedna sjemenka *Aristolochiae clematitis* bila smljevena s 10.000 sjemenki žita, koliko je potrebno za 1 kg kruha.<sup>56</sup> Razlika u količini unesenog u organizam u određenom periodu razlog je akutnog, tj. supkroničnoga kliničkog tijeka u tzv. nefropatiji kineskih trava i kroničnoga sporog tijeka u EN-u. Obilježja EN-a i nefropatije kineskih trava prikazana su u tablici (tablica 2.).

Na temelju davnih Ivićevih rezultata i ideja te patohistološke i kliničke sličnosti EN-a i nefropatije kineskih trava stvoreni su intelektualni preduvjeti za početak znanstvenog istraživanja. Srećom, naš interes dijelio je i naš sada dugogodišnji partner profesor Arthur P. Grollman bez čije suradnje i moćnog laboratorija ne bismo mogli doći do odgovora o uzročniku EN-a. Naša vodeća hipoteza bila je da je kroničan unos niskih doza AA u genski predisponiranih osoba glavni razlog i objašnjenje svih epidemioloških i kliničkih osobitosti EN-a. Odgovor na pitanje jesu li se u prošlosti sjemenke aristolohije češće mljele sa žitom u oboljelih od EN-a nego u drugih bubrežnih bolesnika dobili smo na temelju svojega prvog pilot (pokusnog) epidemiološkog istraživanja.<sup>56</sup> Oboljeli od EN-a značajno su češće na svojim poljima i njivama opažali korov *Aristolochia clematitis* nego drugi kronični bubrežni bolesnici na programu kronične dijalize u Općoj bolnici »Dr. Josip Benčević« u Slavonskom Brodu (OR = 7.2 95% CI: 1,8 – 29,0) te su oboljeli od EN-a za razliku od drugih kroničnih bubrežnih bolesnika češće opažali sjemenke *Aristolochiae clematitis* među sjemenkama žita (OR 12,1 95% CI 2,7 – 55,5). Ti podaci bili su u skladu s Ivićevim opažanjima i potvrda da su oboljeli od EN-a imali značajno veću vjerojatnost izloženosti AA, a izračunana doza unijeta tijekom 15 godina potvrđivala je da je kumulativna doza toksina bila dostatna da dovede do kronične tubulointersticijske nefropatije i karcinoma. Sljedeći dokaz koji smo dobili bilo je određivanje biomarkera izloženosti AA, tj. određivanje kovalentno vezanih adukata metabolita AA.<sup>25</sup> U četvero bolesnika s EN-om i u



Legenda/Legend:

α-1M = alfa1 mikroglobulin (mg/l)/alpha1 mikroglobulin (mg/L);  
 UAC = albumin (mg/l)/albumin (mg/L);  
 α-1MCR = alfa1 mikroglobulin/kreatinin u urinu (mg/g)/alpha1 mikroglobulin/urinary creatinine (mg/g);  
 KBB/CKD – kronična bubrežna bolest/chronic kidney disease  
 -----▶ prema izboru/mišljenju nefrologa/optional; decision by nephrologist

Slika 2. Novi dijagnostički kriteriji za endemsku nefropatiju (EN)  
 Figure 2. Diagnostic algorithm for endemic nephropathy

3 bolesnika s karcinomom prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava iz endemskih sela detektirali smo prisutnost adukata AA, ali ni u jednog bolesnika izvan endemskog žarišta. To je bio prvi dokaz izloženosti AA u EN-u. No, to je bila samo potvrda da je toksin unesen, a ne da je i uzročno povezan s bolesti. Već je navedeno da AA dovodi selektivno do mutacije adenina te da je tipična mutacija koju izaziva A: T→T:A transverzija gena za p53, što je tzv. potpis AA. Ako vezanje AA za DNA nije samo inertno, nego dovodi i do mutacije, tada bi i u oboljelih od EN-a ova mutacija morala biti prisutna. U jedanaest oboljelih od EN-a s karcinomom prijelaznog epitela uočili smo da mutacija A:T para čini

89% svih mutacija gena za p53, a da je većina (78%) upravo A:T→T:A transverzija, što je bila i prva potvrda kauzalne povezanosti AA i EN-a. Za usporedbu u Međunarodnom IARC registru, kako je već navedeno, A:T→T:A transverzija bila je prije naših istraživanja prisutna u samo 5% bolesnika, a sada je taj broj veći i kreće se oko 14% (vjerojatno su to ostali slučajevi nefropatije aristolohične kiseline registrirani diljem svijeta).<sup>38</sup> Vrijednost ovih rezultata još je veća jer su u našoj skupini bolesnika bili i bolesnici iz bosanskog endemskog žarišta, što je potvrdilo da je isti uzročnik prisutan u oba žarišta. Kasniji rezultati našeg suradnika iz Beograda profesora Jovana Nikolića potvrdili su da

je AA uzročni čimbenik EN-a i u Srbiji, a nedavni podaci iz Rumunjske također su istovjetni.<sup>26,57,58</sup> Još jedan dokaz povezanosti AA i bubrežne bolesti, odnosno karcinoma prijelaznog epitela stiže iz Tajvana. Tajvan je zemlja s najvišom incidencijom karcinoma prijelaznog epitela u svijetu, zemlja u kojoj se pripravci dobiveni od biljaka roda aristolohija godinama koriste u sklopu tradicionalne medicine. Analizom uzoraka tkiva tajvanskih bolesnika s karcinomima prijelaznog epitela nađena je karakteristična potpisna mutacija gena TP53 – transverzija A:T→T:A, identična onoj uočenoj u EN-u, u danas prihvaćenom okolišnom obliku nefropatije aristolohične kiseline. Također je uočena prisutnost AA DNA adukata u korteksu bolesnika, što je potvrda izloženosti AA. Ovim istraživanjem dobiven je još jedan dokaz uzročno-posljedične veze kobne biljke s pojavom bolesti.<sup>59,60</sup>

Konačno, rezultati našega kliničko-epidemiološkog istraživanja potvrdili su da su AA DNA adukti biljezi izloženosti okolišnom toksinu, tj. AA.<sup>26</sup> U ovo istraživanje uključili smo 67 bolesnika s karcinomom prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava iz 54 različita endemska sela i tri države (Hrvatska, Bosna i Hercegovina i Srbija). U kontrolnu skupinu uključili smo 10 bolesnika s karcinomom prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava izvan endemskih žarišta (petero iz Zagreba i petero iz Beograda). U skupini bolesnika iz endemskih sela, jednako kao što smo registrirali i u skupini bolesnika koju smo bili uključili u svoje prvo pokusno istraživanje<sup>56</sup> potvrdili smo da su oboljeli od EN-a imali znatno veći rizik od izloženosti AA koju su prema do sada prikupljenim podacima unosili kruhom, najčešće upotrebljavanim namirnicom u tim siromašnim selima. Naime, od oboljelih bolesnika 95,7% bili su zemljoradnici koji su uzgajali žito, 97,9% ih je peklo vlastiti kruh, a 86,4% primjećivalo je korov *Aristolochia clematitis* u svojim žitnim poljima. DNA adukta metabolita aristolohične kiseline našli smo u 70% bolesnika, a tipična mutacija gena p53 registrirana je u 64% uzoraka. U ovom istraživanju uzročnu je povezanost potvrdio podatak da su DNA adukti metabolita AA bili prisutni u 95% uzoraka s tipičnom A:T→T:A transverzijom gena za p53. Time je dodatno i konačno potvrđena povezanost biomarkera izloženosti (adukti) s karcinogenim učinkom (mutacijski spektar p53). Usto s pomoću masene spektrometrije (LC-ESI/MS/MS3) kemijski je u aduktima bolesnika identificirana AA. Na temelju tih rezultata zaključili smo da su u genski predisponiranih osoba izloženost AA i unos putem hrane (kruh) uzročno povezani s EN-om i udruženim karcinomima prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava. Svi ovi podaci nepo- bitno potvrđuju da je AA glavni uzročni čimbenik EN-a.

### Epidemiološko-klinička istraživanja, novi dijagnostički kriteriji i klasifikacija endemske nefropatije

Osim istraživanja etiologije EN-a cilj naših projekata bio je analizirati današnje epidemiološke osobitosti. Već je spomenuto da neki autori nisu uočili bitnije promjene u prevalenciji, no mi smo u nekim selima uočili tendenciju smanjivanja, pa čak i potpunog iščezavanja. No, u svim novim istraživanjima uočen je pomak prema starijoj dobi, što upućuje na manju izloženost ili, što je vjerojatnije, prestanak izloženosti etiološkomu vanjskom čimbeniku. U nekim od ranije poznatim endemskim selima nismo registrirali nijedan oboljelog, a tijekom desetogodišnjega perioda nijedan oboljeli od EN-a iz tih sela nije završio na dijalizi.<sup>6,9</sup> S obzi-

rom na navedeno, ostaje otvoreno pitanje vjerojatnog iščezavanja EN-a na što ćemo vrlo vjerojatno dobiti odgovor u svojim budućim epidemiološkim istraživanjima.

Oštećenje proksimalnog tubula jedno je od glavnih obilježja EN-a i tijekom proteklih desetljeća pokušavalo se odrediti što bi moglo biti rani biljeg oštećenja koristan u dijagnostičkom algoritmu. Danas se najpouzdanijim biljgom smatra alfa1-mikroglobulin. No, on nije patognomoničan te je i nadalje potrebno rabiti kombinaciju nekoliko epidemioloških, kliničkih i laboratorijskih pokazatelja.

Postojeći su kriteriji za EN zastarjeli, neizjednačeni (tri vrste kriterija za EN) te nisu u skladu s novim preporukama za klasifikaciju kroničnih bubrežnih bolesti. Stoga je na temelju recentnih rezultata na simpoziju o EN-a prihvaćeno mišljenje i prijedlog ekspertne skupine stručnjaka i znanstvenika iz svih država gdje je dijagnosticiran EN, kao i iz svijeta gdje su opisani slučajevi nefropatije aristolohične kiseline o novim dijagnostičkim kriterijima<sup>61</sup> (slika 2.). Također je predložena i prihvaćena nova klasifikacija populacije endemskih sela (tablica 3.).

Tablica 3. Nova klasifikacija populacije u endemskim selima  
Table 3. New classification of population in endemic villages

I. Bolesni/Oboljeli od EN-a/ Diseased/Affected	II. Sumnjivi da boluju od EN-a/ Suspected of EN
1. Dokazan biopsijom/(indikativno za EN)/ Biopsy proven (indicative of EN) ILI/OR	1. Boravak u EN kućanstvima > 15 godina/Residency in EN households > 15 years + smanjena eGFR/ decreased eGFR + anemija <sup>2</sup> / anemia <sup>2</sup> ILI/OR
2. Boravak u EN selu > 20 godina/ Residency in an EN village > 20 years + tubularna proteinurija/ tubular proteinuria <sup>1</sup> + smanjena eGFR/ decreased eGFR + anemija <sup>2</sup> / anemia <sup>2</sup> ILI/OR	2. Boravak u EN selima > 20 godina/Residency in EN village > 20 years + tubularna proteinurija/ tubular proteinuria <sup>1</sup> ILI/OR
3. Boravak u EN kućanstvima > 15 godina/Residency in EN household > 15 years + tubularna proteinurija/ tubular proteinuria <sup>1</sup> ILI/OR	3. Boravak u EN selima > 20 godina/Residency in EN village > 20 years + UUC <sup>3</sup>
4. Boravak u EN selima > 20 godina/ Residency in an EN village > 20 years + UUC <sup>3</sup> + tubularna proteinurija/ tubular proteinuria <sup>1</sup>	
III. Visokorizična grupa za EN/ High risk group for EN	IV. Sporadični EN <sup>4</sup> / Sporadic EN <sup>4</sup>
1. Boravak u EN kućanstvima > 15 godina/Residency in EN households > 15 years	Dokazan biopsijom/indikativno za EN u bolesnika s UUC u neendemskim područjima ili i osoba u istom kućanstvu/ Biopsy proven/indicative of EN in patient with UUC outside of the endemic region or in member of their household
2. Boravak u kućanstvima sa sporadičnim EN slučajevima > 15 godina/Residency in households with sporadic/suspected EN cases > 15 years	

<sup>1</sup>  $\alpha$ -1MCR > 31,5 mg/g i/  $\alpha$ -1/UAC  $\geq$  0,91

<sup>2</sup> Hemoglobin < 120 g/l za muškarce i žene > 50 godina, i < 110 g/l za žene < 50 godina/ Hemoglobin < 120 g/l for men and women > 50 years, and < 110 g/l for women  $\geq$  50 years

<sup>3</sup> UUC – karcinom prijelaznog epitela mokraćovoda/ upper urothelial cancer

<sup>4</sup> Osobe s kroničnim intersticijskim nefritom u kojih druge uzroke nefritisa treba isključiti (refluksna nefropatija, kronični pijelonefritis, recidivirajući pijelonefritis, hipertenzivna nefroskleroza, izloženost olovu, kadmiju, biljkama koje sadržavaju aristolohičnu kiselinu, ciklosporinu A, ifosfamid, pamidronat, litiju ili nitrozoureji, NSAR./Subjects with chronic interstitial nephritis where other causes should be excluded (reflux nephropathy, chronic pyelonephritis, recurrent pyelonephritis, hypertensive nephrosclerosis, exposure to lead, cadmium, herbs containing aristolochic acid, cyclosporin A, ifosfamide, pamidronate, lithium and nitrosoureas, NSAID)

### Projekt endemske nefropatije u Hrvatskoj – model istraživanja prema postulatima translacijske medicine

U eri brzog života, a posebno u medicini, potrebno je što prije nova znanja primijeniti u stvarnom životu i kliničkoj praksi. Kao što se može razabrati prema našim prethodno opisanim istraživanjima krenuli smo prvo od bolesnika i potvrdili da je izloženost AA bila glavni rizični čimbenik u genski predisponiranih osoba za nastanak bolesti. Sofisticiranim laboratorijskim metodama to je i potvrđeno te je dokazivanje AA DNA adukata već izvršeno u dijagnostičke smjernice i postupnik. Jedan primjer koji ovdje navodimo jest donošenje odluke o binefektomiji prije transplantacije bubrega s EN-om. Imunosupresija u tih bolesnika nosi veći rizik od razvoja karcinoma prijelaznog epitela uretera vlastitih bubrega čemu su oni izloženi zbog dokazane etiopatogeneze.<sup>62,63</sup> Kohortnim epidemiološkim istraživanjem došli smo do rezultata na temelju kojih smo modificirali kriterije i klasifikaciju, što se također vratilo u klinički rad. Od bolesničkog kreveta ponovo smo se vratili u laboratorij s ciljem razjašnjenja genskih polimorfizama koji ne samo da predisponiraju za nastanak bolesti nego određuju i klinički tijek. Naime, zamijetili smo da se u nekih bolesnika razvije samo kronična bubrežna bolest, u nekih prvo karcinom i poslije bubrežno oštećenje, dok se neki prezentiraju istodobno s obje kliničke slike EN-a.<sup>64</sup> Sam popis suradnika otkrit će isprepletenost epidemioloških, bazičnih i kliničkih znanosti s istodobnom uključenosti i stručnjaka javnog zdravstva. Osobito nam je bilo važno, i na to smo posebno ponosni, što smo odmah sve dobivene rezultate slali ispitanicima i njihovim liječnicima obiteljske medicine s uputom o eventualnom daljnjem postupku kod ovlaštenih specijalista (npr. nefrolog i/ili urolog) ako je to bilo potrebno.

#### Otvorena pitanja i jedno upozorenje

Prava znanost nikada ne daje sve odgovore. I naši rezultati koji su sigurno dali jedan od važnijih odgovora u istraživanju EN-a otvorili su niz pitanja, a neke odgovore morat ćemo tražiti i izvan medicinskih znanosti. Upravo odgovor na pitanje hoće li EN nestati dobit ćemo u suradnji s agronomima jer je najvjerojatnije poboljšana tehnologija žetve, vršidbe i mljevenja odgovorna za pad izloženosti, na što naši preliminarni rezultati već upućuju.<sup>56</sup> Prvi »prirodni pokus« s Ukrajincima dokazao je važnost okoliša i načina života u endemskim selima. Kao što je već spomenuto u tijeku je analiza tzv. drugoga prirodnog pokusa s imigrantima iz Bosne koji su se za vrijeme ratnih zbivanja devedesetih godina naselili u ove prostore gdje sada žive više od petnaest godina. Ako u toj podskupini stanovnika ne evidentiramo veću učestalost bubrežnog oštećenja, moći ćemo zaključiti da u endemskim selima više nema rizika od obolijevanja, tj. da vanjski etiološki čimbenik nije aktivan, što će biti odgovor jednako važan kao i detekcija adukata u bubrežnom tkivu. Je li unos toksina kruhom bio jedini put? Naši rezultati opovrgavaju unos čajevima i tradicionalnim liječenjem.<sup>65,66</sup> Je li moguće bio unos i drugim načinom? Ne znamo. Hoće li prehrambeni tehnolozi i klinički kemičari moći odgovoriti? Zbog čega je bolest bila proglašena endemskom, a biljka je ubikvitarna? Danas znamo da bolest nije endemska, no zbog čega je prije bila registrirana samo u određenim regijama? Zbog čega nije u Hrvatskoj bila prisutna i u selima uzvodnije ili nizvodnije od Slavenskog Broda? Ili zbog čega je nema uz Dravu, Muru ili Kupu? Ne znamo. Možda je prije *Aristolochia clematitis* ipak obilnije

rasla na prostoru oko endemskih sela, što je primijetio Ivić u Srbiji. Možda bi nam tu pomoć mogli pružiti geolozi? Možda su postojale razlike u načinu žetve i mljevenja? Možda u načinu pripreme kruha? Možda je bolesti bilo i izvan određenih endemskih prostora, ali vjerojatno se nije na to pomišljalo jer je i sam dijagnostički algoritam to na određen način sputavao i determinirao. Nikolić je već izvjestio o tzv. sporadičnim oblicima EN-a izvan endemskih žarišta,<sup>67</sup> a naši rezultati i dokazivanje DNA AA adukata u bolesnika iz neendemskih sela pokazuju da je i prije bila prisutna, ali neprepoznata.

Ipak, sigurno znamo da je prisutnost AA dokazana u bubrežnom i karcinomskom tkivu oboljelih i da je dokazana uzročna povezanost između toksina i bolesti. Odgovore na ova druga pitanja nadamo se da će donijeti novi interdisciplinarni projekti. Zbog čega obolijeva samo oko 5% izloženih? To je zamijećeno i na Balkanu, i u Belgiji i na Tajvanu. Naša istraživanja genskih polimorfizama, pa i sekvencioniranja cijeloga genoma oboljelih i u prošlosti jednako izložene zdrave braće te usporedba s oboljelima u drugim dijelovima svijeta mogla bi dati taj odgovor. Osim genske predispozicije u tijeku su i naša istraživanja epigenetskih mehanizama genskim profiliranjem karcinoma oboljelih. Postoji li specifični biljeg za EN, tj. za nefropatiju aristolohične kiseline? Je li sada kada znamo uzročnika put do tog odgovora olakšan? Očekujemo da će nastavak naših istraživanja koristeći se mogućnostima proteomike i metabolomike, a ne samo pojedinih biljega oštećenja proksimalnog tubula, ako ne dati odgovor, onda nas približiti i omogućiti da se dijagnoza postavlja još ranije i još specifičnije.

Endemska nefropatija je nefropatija aristolohične kiseline. Tragični događaji u Belgiji, potvrda iz Tajvana i brojni slučajevi diljem svijeta gdje je AA slučajno ili namjerno bila dio terapijskog postupka trebalo bi biti pouka i veliko upozorenje na oprez prilikom provođenja tzv. tradicionalne ili »prirodne« medicine gdje riječ prirodna na magičan način postaje sinonim za zdravo. Nažalost, to »zdravo« nije najčešće dovoljno provjereno. Takvi pripravnici ne moraju nužno biti toksični i karcinogeni kao što je to AA, nego mogu izazivati interakcije ili nuspojave zbog kojih bolesnici mogu imati štete prilikom uzimanja određenih lijekova i tako otežati liječenje i djelovati nepovoljno na tijek i na ukupno zdravlje tih osoba.

#### ZAHVALA

*Istraživanja su omogućena ovim projektima: Grantovi broj 5 P01 ES04068 i R01 ES019564 NIEHS (National Institute of Environmental Health Sciences), grantom 1R03 TW007042 Centra Fogarty International, NIH, Zickler fondacijom, projektom broj 108-0000000-0329 Ministarstva znanosti Republike Hrvatske, projektom 04-38 Hrvatske zaklade za znanost, pomoći i potporom Društva za razvitak nefrologije »Prof. dr. Milovan Radonić«, Opće bolnice »Dr. Josip Benčević«, Slavonski Brod, Zavod za javno zdravstvo Brodsko-posavske županije i suradnjom tvrtke Abbott Laboratories, predstavništvo za Hrvatsku.*

#### SURADNICI NA PROJEKTU

*Opća bolnica »Dr. Josip Benčević«, Slavonski Brod, Hrvatska*

Zvonimir Medverec, Damir Dittrich, Matej Knežević, Krešo Karlović, Krunoslav Jakovina, Tratinčica Jakovina, Mato Vukelić, Karla Tomić, Ivana Mahovne, Maja Mišić, Ljubica Fuštar Preradović, Ninoslav Leko, Tomislav Teskera, Martin Barišić, Martin Vinković, Anamarija Kovač Peić



Hrvatski zavod za javno zdravstvo Brodsko-posavske županije, Slavonski Brod, Hrvatska

Ante Cvitković, Marica Miletić-Medved, Dragana Jurić

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Klinički bolnički centar Zagreb

Bojan Jelaković, Mario Laganović, Ljiljana Fodor, Ivan Pećin, Jelena Kos, Margareta Fištrek-Prlić, Živka Dika, Vedran Premužić, Sandra Karanović, Ivana Vuković Lela, Mirjana Fuček, Jadranka Sertić, Danica Matišić, Dubravka Čvorišćec, Fran Borovečki

Institut »Ruđer Bošković« u Zagrebu

Branko Brdar, Neda Slade, Ivan Habuš

Ordinacija obiteljske medicine u Bebrini

Mirta Abramović-Barić

Ordinacija obiteljske medicine u Slavanskom Kobašu

Vesna Matijević

Opća bolnica Odžak; Odžak, Bosna i Hercegovina

Želimir Stipančić

Klinika za urologiju Kliničkoga bolničkog centra u Beogradu

Jovan Nikolić

Zavod za eksperimentalnu nefrologiju Medicinskog fakulteta Slobodnog sveučilišta u Bruxellesu, Belgija

Jöelle L. Nortier, Marie-Helene Antoine, Cecile Husson, Eric G. De Prez

Državno sveučilište New York (SUNY), SAD

Arthur P. Grollman, Francis Johnson, Kate Dickman, Tom Rosenquist, Shinya Shibutani, Fred Miller, Rob Turesky

Sveučilište Washington, SAD

Bruce Weir; Karen Edwards

Sveučilište Toronto, Kanada

Igor Štagljar

Međunarodna agencija za karcinome, IARC, Lyon, Francuska

Jiri Zavadiš

#### LITERATURA

1. WHO. The »Endemic Nephropathy« of South-Eastern Europe. Bull World Health Organ 1965;32:441–8.
2. Čvorišćec D. Early diagnosis of endemic nephropathy. Clin Chim Acta 2000;297:85–91.
3. Čeović S, Miletić Medved M. Epidemiological features of endemic nephropathy in focal area of Brodsko Posavina, Croatia. U: Čvorišćec, Čeović, Stavljenić-Rukavina, ur. Endemic nephropathy in Croatia. Zagreb: Hrvatska akademija medicinskih znanosti; 1996, str. 7–23;
4. Pichler O, Bobinac E, Miljuš B, Sindik A. O učestalosti pojavi bubrenih oboljenja u okolici Slavanskog Broda. Liječ Vjesn 1959;81:295–306.
5. Miletić-Medved M. Prevalence of endemic nephropathy and urothelial cancers in Croatia. Coll Antropol 2006;30Suppl 1:43.
6. Dika Ž. Evaluacija dijagnostičkih kriterija za endemsku nefropatiju (disertacija). Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu; 2012, str. 82.
7. Imamović G, Trnčević S, Mesić E, Stipančić Ž. Endemic (Balkan) nephropathy in Bosnia and Herzegovina: current status. Coll Antropol 2006;30Suppl 1:41.
8. Bukvić D, Marić I, Arsenović A, Janković S, Djukanović L. Prevalence of Balkan endemic nephropathy has not changed since 1971 in the Kolubara region in Serbia. Kidney Blood Press Res 2007;30Suppl 2:117–23.
9. Cvitković A, Vuković Lela I, Edwards K i sur. Could disappearance of endemic (Balkan) nephropathy be expected in forthcoming decades. Kidney Blood Press Res 2011;23;35:147–52.
10. Čeović S, Pleština R, Miletić-Medved M, Stavljenić A, Mitar J, Vukelić M. Epidemiological aspects of Balkan endemic nephropathy in a typical focus in Yugoslavia. IARC Sci Publ 1991;115:5–10.
11. Petronić VJ, Bukurov NS, Djokić MR i sur. Balkan endemic nephropathy and papillary transitional cell tumors of the renal pelvis and ureters. Kidney Int Suppl 1991;34:S77–9.
12. Belicza M, Dubravić A, Leniček T i sur. Comparison of upper urinary tract carcinomas in Brodsko-posavska endemic nephropathy region with those in the pathoanatomical registry of Sestre milosrdnice University hospital in Zagreb. Coll Antropol 2006;30Suppl 1:68.
13. Miletić-Medved M, Domijan AM, Peraica M. Recent data on endemic nephropathy and related urothelial tumors in Croatia. Wien Klin Wochenschr. 2005;117(17):604–9.
14. Voice TC, Long DT, Radanović Z i sur. Critical evaluation of environmental exposure agents suspected in the etiology of Balkan endemic nephropathy. Int J Occup Environ Health 2006;12:369–76.
15. Krogh P, Axelsen NH, Elling F i sur. Experimental porcine nephropathy: changes of renal function and structure induced by ochratoxin A-contaminated feed. Acta Pathol Microbiol Scand (A) 1974; Suppl 246:1–21.
16. Fuchs R, Peraica M. Ochratoxin A in human kidney diseases. Food Addit Contam 2005;22Suppl 1:53–7.
17. Castegnaro M, Canadas D, Vrabcheva T, Petkova-Bocharova T, Chernozemsky IN, Pfohl-Leszkowicz A. Balkan endemic nephropathy: role of ochratoxins A through biomarkers. Mol Nutr Food Res 2006;50: 519–29.
18. xxx. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to ochratoxin A in food. The EFSA J 2006;365:1–56.
19. Breitholtz-Emanuelsson A, Minervini F, Hult K, Visconti A. Ochratoxin A in human serum samples collected in southern Italy from healthy individuals and individuals suffering from different kidney disorders. Nat Tox 1994;2:366–70.
20. Özçelik N, Koşar A, Soysal D. Ochratoxin A in human serum samples collected in Isparta-Turkey from healthy individuals and individuals suffering from different urinary disorders. Toxicol Lett 2001;8:121: 9–13.
21. Hmaissia Khelifa K, Ghali R, Mezigh C i sur. Serum levels of ochratoxin A in healthy subjects and in nephropathic patients in Tunisia. Ann Biol Clin (Paris) 2008;66:631–6.
22. Radić B, Fuchs R, Peraica M, Lucić A. Ochratoxin A in human sera in the area with endemic nephropathy in Croatia. Toxicol Lett 1997;28: 91:105–9.
23. Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. U: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Some Naturally Occurring Substances. Lyon: IRAC; 1993, str. 489–521.
24. Grollman AP, Scarborough J, Jelaković B. Aristolochic acid nephropathy: an environmental and iatrogenic disease. Adv Mol Tox 2009;3: 211–27.
25. Grollman AP, Shibutani S, Moriya M i sur. Aristolochic acid and the etiology of endemic (Balkan) nephropathy. Proc Natl Acad Sci 2007; 104:12129–34.
26. Jelaković B, Karanović S, Vuković-Lela I i sur. Aristolactam-DNA adducts are a biomarker of environmental exposure to aristolochic acid. Kidney Int 2012;81:559–67.
27. Stiborová M, Frei E, Arlt VM, Schmeiser HH. Metabolic activation of carcinogenic aristolochic acid, a risk factor for Balkan endemic nephropathy. Mutat Res 2008;658:55–67.
28. Dickman KG, Sweet DH, Bonala R, Ray T, Wu A. Physiological and molecular characterization of aristolochic acid transport by the kidney. J Pharmacol Exp Ther 2011;338:588–97.
29. Rosenquist TA, Eimolf HJ, Dickman KG, Wang L, Smith A, Grollman AP. Cytochrome P450 1A2 detoxicates aristolochic acid in the mouse. Drug Metab Dispos 2010;38:761–8.
30. Nortier JL, Vanherweghem JL. For patients taking herbal therapy – lessons from aristolochic acid nephropathy. Nephrol Dial Transplant 2007;22:1512–17.
31. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer; 2002.
32. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 100A. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer; 2011: Twelfth Report on Cancerogens, <http://www.ntp.niehs.nih.gov/go/roc12>. Pristupljeno 20.10.2013.
33. Schmeiser HH, Bieler CA, Wiessler M i sur. Detection of DNA adducts formed by aristolochic acid in renal tissue from patients with Chinese herb nephropathy. Cancer Res 1996;56:2025–8.
34. Arlt VM, Stiborova M, Schmeiser HH. Aristolochic acid as a probable human cancer hazard in herbal remedies: a review. Mutagenesis 2002; 17:265–77.
35. Bieler CA, Stiborova M, Wiessler M, Cosyns JP, van Ypersele de Strihou C, Schmeiser HH. 32P-post-labelling analysis of DNA adducts formed by aristolochic acid in tissues from patients with Chinese herbs nephropathy. Carcinogenesis 1997;18:1063–1067.
36. Liu Z, Hergenbalm M, Schmeiser HH, Wogan GN, Hong A, Hollstein M. Human tumor p53 mutations are selected for in mouse embryonic fibroblasts harboring a humanized p53 gene. Proc Natl Acad Sci USA 2004;101:2963–68.
37. Lord GM, Cook T, Arlt VM, Schmeiser HH, Williams G, Pusey CD. Urothelial malignant disease and Chinese herb nephropathy. Lancet 2001;358:1515–6.



38. *Olivier M, Eeles R, Hollstein M, Khan MA, Harris CC, Hainaut P.* The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. *Hum Mutant* 2002; 19:607–614. <http://p53.iarc.fr/TP53SomaticMutations.aspx>. Pristupljeno 20.10.2013.
39. *Dawson WR, Birthwort.* A study of the progress of medical botany through twenty-two centuries. *Pharmaceutical J Pharmacist* 1927;396: 427–430.
40. *Scarborough J.* Theophrastus on herbals and herbal remedies. *J Hist Biol* 1978;11:353–358.
41. *Riddle JM.* *Eve's Herbs, A History of Contraception and Abortion in the West.* Cambridge: Harvard University Press; 1997.
42. *Arber A.* *Herbals: Their Origin and Evolution. A chapter in the history of botany.* 3. izd. Cambridge: Cambridge University Press; 1986, str. 1470–1670.
43. *Watt G.* *A Dictionary of Economic Products of India, Vol. 1.* Calcutta Superintendent of Government Printing, 1885. str. 331–336.
44. *Zhong Hua Ben Cao.* Health Department and National Chinese Medicine Management Office. Shanghai: Science Technology Publication; 1999, str. 460–509.
45. *Martinčić M.* Toxische Einwirkung der *Aristolochia clematitis* auf die Niere des Pferdes. *Vet Arh* 1967;27:51–59.
46. *Dumić A.* Trovanje konja vučjom stopom. Beograd: Izdanje Vojnotehničkog glasnika; 1954.
47. *Lapčević E, Penezić B, Kozic Lj i sur.* Alimentarna intoksikacija konja vučjom jabukom. *Vet Glas* 1952;9–10:27–31.
48. *Ivić M.* Problem etiologije endemske nefropatije. *Liječ Vjesn* 1969;91: 1273–81.
49. *Ivić M, Lovrić B.* Karcinogeni učinak aristolohije. *Acta Med* 1967;5: 1–3.
50. *Vanherweghem JL, Depierreux M, Tielemans C i sur.* Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs. *Lancet* 1993;341:387–91.
51. *Cosyns JP, Jadoul M, Squifflet JP i sur.* Chinese herbs nephropathy: a clue to Balkan endemic nephropathy? *Kidney Int* 1994;45:1680–8.
52. *Cosyns JP, van Ypersele de Strihou C.* Chinese herbs (and other rare causes of interstitial nephropathy). U: Davison AM, Cameron JS, Grunfeld JP, Ponticelli C, Ritz E, Winearls CG, van Ypersele C, ur. *Oxford Textbook of Clinical Nephrology.* New York: Oxford University Press; 2005, str. 1103–08.
53. *Cosyns JP.* Aristolochic acid and 'Chinese herb nephropathy': A review of the evidence to date. *Drug Saf* 2003;26:33–48.
54. *Nortier JL, Martinez MC, Schmeiser HH i sur.* Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*). *N Engl J Med* 2000;342:1686–92.
55. *Muniz Martinez MC, Nortier J, Vereerstraeten P, Vanherweghem JL.* Progression rate of Chinese herb nephropathy: impact of *Aristolochia fangchi* ingested dose. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:408–12.
56. *Hranjec T, Kovač A, Kos J i sur.* The case for chronic poisoning by *Aristolochia*. *Croat Med J* 2005;46:116–25.
57. *Nikolić J.* Uzrok endemske nefropatije i tumora gornjeg epitela. Beograd: Srpsko lekarsko društvo; 2012, str. 169–176.
58. *Schmeiser HH, Kucab JE, Arlt VM i sur.* Evidence of exposure to aristolochic acid in patients with urothelial cancer from a Balkan endemic nephropathy region of Romania. *Environ Mol Mutagen* 2012;53: 636–41.
59. *Yang MH, Chen KK, Yen CC i sur.* Unusually high incidence of upper urinary tract urothelial carcinoma in Taiwan. *Urology* 2002;59:681–7.
60. *Chen CH, Dickman KG, Moriya M i sur.* Aristolochic acid-associated urothelial cancer in Taiwan. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;22:109: 8241–6.
61. *Jelaković B, Nikolić J, Radovanović Z i sur.* Consensus statement on screening, diagnosis, classification and treatment of endemic (Balkan) nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2013;0:1–9.
62. *Bašić-Jukić N, Hršak-Puljić I, Kes P i sur.* Renal transplantation in patients with Balkan endemic nephropathy. *Transplant Proc* 2007;39:1.
63. *Živčić-Čosić S, Gržetić M, Valenčić M i sur.* Urothelial cancer in patients with Endemic Balkan Nephropathy (EN) after renal transplantation. *Ren Fail* 2007;29:861–5.
64. *Karanović S, Vuković Lela I, Jelaković B i sur.* Variation in Presentation and Presence of DNA Adducts and p53 Mutations in Patients with Endemic Nephropathy – an Environmental Form of the Aristolochic Acid Nephropathy. *Kidney Blood Press Res* 2013;37:1–8.
65. *Fištrek M, Kovač-Peić A, Kos J i sur.* Ingestion of herbal tea in Croatian endemic area. *Acta Med Croat* 2008;62(suppl 1):110.
66. *Ivković V, Karanović S, Fištrek M i sur.* Is herbal tea consumption a factor in endemic nephropathy (u tisku).
67. *Nikolić J.* Incidence trend of sporadic EN. U: Nikolić J. *Epidemic Nephropathy and Upper Urothelial Tumors.* Beograd: Belgrade AD; 2006, str. 185–192.



## Vijesti News



### POZIV NA SUDJELOVANJE Petnaesti proljetni simpozij medicinske etike Hrvatskoga liječničkog zbora »Etičnost 'alibi' medicine«

**Hrvatski liječnički zbor**  
**2. lipnja 2015. od 14,00 do 20,00 sati**

Simpozij će bodovati Hrvatska liječnička komora!

Sažetak s 3–5 ključnih riječi, molimo poslati do **1. ožujka 2015.**

Cjelokupni rad (naslov, autor, adresa autora, sažetak, summary, tekst rada, literatura napisana prema uputama za Liječnički vjesnik) molimo poslati do **15. travnja 2015.** na adrese:

tajnistvo@hlz.hr

givanisevic@hotmail.com