

## Endemska nefropatija u području Brodsko-posavske županije (Endemic Nephropathy in the Area of Brod-Posavina County)

Đuro Josić

COBRE Center for Cancer Research Development  
Brown University Medical School, Providence, USA

**Ključne riječi:** endemska nefropatija, genomics, proteomics, biostatistička analiza, brza dijagnoza

Nekolicina sela u Brodsko-posavskoj županiji, nadomak rijeke Save i u prvom susjedstvu grada Slavanskog Broda, pripadaju području donjeg sliva rijeke Dunava i pogođeni su endemskom nefropatijom - bubrežnom bolešću nepoznate etiologije i progresivnog tijeka koji završava terminalnom bubrežnom insuficijencijom.

Zašto bas Kaniža, Slavonski Kobaš, Bebrina? Kako to da se bolest ne javlja u Slavanskom Brodu i u selima s istočne strane grada? Otkud to da istu bolest ponovo nalazimo u Bosni, s druge strane Save? Okolica Odžaka drugo je endemsko područje, iza Odžaka su opet područja bez nefropatije, koju ponovo nalazimo u Bosni u okolici Bijeljine, pa dalje u Srbiji, opet južno od Save i Dunava, pa onda ponovo u Bugarskoj i Rumunjskoj. Brodsko područje je zadnje područje prema sjeverozapadu, i jedina regija u Hrvatskoj pogođena ovom bolešću. Zasto baš mi, pitaju se pogođeni? Kako to da takve podmukle bolesti uvijek pogađaju najsiromašnije? Jer sela pogođena ovom bolešću su među najsiromašnijima u našoj županiji.

Nakon otkrića endemske nefropatije u pedesetim godinama prošlog stoljeća, postavljeno je nekoliko hipoteza da se objasni uzrok ove bolesti. Neke su odbačene, neke su se održale do danas, postavljaju se nove ili se ponovo vraća na stare teme. Još nema odgovora na pitanje zašto se nefropatija javlja na točno definiranim geografskim područjima, zašto ta bolest pogađa samo određene obitelji. Zašto opet pogađa samo neke članove jedne te iste obitelji, dok drugi ostaju zdravi? Zašto ne pogađa djecu, nego odrasle koji su živjeli najmanje petnaest-dvadeset godina na ugroženom području? Od nefropatije se ne može pobjeći – stanovnici skloni ovoj bolesti koji su živjeli više od petnaest godina u ugroženim selima, ako i odele i žive izvan endemskog područja mogu oboljeti. Emigracija u Australiju, Ameriku ili pak susjednu Austriju tu ne pomaže. Ova podmukla bolest stiže svuda. Ali na sreću nije zarazna i ne nasljeđuje se.

Puno je učinjeno na području naše Županije u zadnjih trideset godina da se taj problem riješi. Ali očigledno, ne i dovoljno. Je li u pitanju trovanje nekim komponentama iz hrane ili vode, je li to utjecaj okoliša ili se radi o jednoj podmukloj virusnoj infekciji? Je li to voda koja truje stanovnike tog područja? Novi vodovodi u pogođenim selima Brodsko-posavske županije nisu donijeli rješenje. Nefropatija je ostala. S novim Centrom za dijalizu u brodskoj bolnici produljen je život pogođenim građanima. Ali s dijalizom i duljim životom dolaze i novi problemi. Dio bolesnika s endemskom nefropatijom i dio ugroženih ljudi iz endemskog kraja kojima je netko bolovao od nefropatije učestalije oboljevaju od, inače rijetkih vrsta raka gornjih mokraćnih putova. Pitanje je, opet, zašto. Što uzrokuje ove tumore? Zašto ih neki bolesnici dobivaju, a drugi ne?

Slavonski Brod je bio teško pogođen ratom, prvo ratom u Hrvatskoj, pa onda u Bosni i Hercegovini. Ova sela su bila nemilosrdno bombardirana i napadana artiljerijom susjeda preko Save. Prva polovica devedesetih bile su ratne godine, u drugoj polovici smo se oporavljali od zadanih rana. Bosanski Brod i veliki dio Bosanske Posavine sada pripada "Republici Srpskoj", što znači da je Slavonski Brod izgubio veliki dio svog prirodnog zaleđa s druge strane Save. Broj stanovnika u gradu i okolici je naglo porastao, a posla je sve manje. U tim devedesetim, ekonomske posljedice ovih naglih promjena su bile poražavajuće. Propast poljoprivrednog dobra "Jasinje" teško je pogodila cijelu Posavinu, a posebice ova ugrožena sela. U tim godinama, na žalost, malo je bilo vremena, pažnje i novca za ovu, kako smo je tada nazvali "zaboravljenu bolest". Rješenje problema endemske nefropatije je u zadnjih pet godina jedan od glavnih zadataka brodskih zdravstvenih radnika. Ponovo su aktivirani specijalisti iz Zagreba, obnovljen je dijalog s kolegama iz inozemstva. Zahvaljujući nesebičnom zalaganju liječnika iz Opće bolnice i Zavoda za javno zdravstvo, 2005 godine osnovan je u Brodu Hrvatski centar za endemsku nefropatiju. Prije tri godine počela je i suradnja između brodskih liječnika, istraživača s Medicinskog fakulteta u Zagrebu i profesora Artura Grollmana sa Sveučilista američke savezne države New York u Stony Brook-u.

Profesor Grollman jedan je od vodećih toksikologa, ne samo u Sjedinjenim Državama, već i u svijetu. Njegov odjel u Stony Brook-u ima veliki i dobro opremljen laboratorij za humanu genetiku. Idealna kombinacija da se nađe odgovor na dva ključna pitanja:

1. Je li endemski nefritis posljedica trovanja nekim agensom iz okoliša? Ako jeste, osjetljivi i

s sofisticirani instrumenti u Stony Brook-u bi trebali otkriti ga i identificirati. Bio bi to prvi korak ka rješenju ovog problema.

2. Zašto su neke obitelji u ugroženom području pogođene, a druge, ponekad iz prvog susjedstva nisu? Zašto samo neki članovi iz obitelji oboljevaju? I, na koncu, zašto samo neki od oboljelih od endemske nefropatije u kasnom stadiju oboljevaju i od raka, a drugi ne? Jedna opširna i detaljna genetska analiza oboljelih treba dati odgovor na ova pitanja.

Prvi rezultati istraživanja iz Stony Brook-a ponovo nas vode do aristolohijske kiseline, jednog od sastojaka vučje stope, korova koji raste na posavskim poljima. Ova supstanca je već prije bila osumnjičena da je uzročnik ove bolesti. Belgijske pacijentice, koje su pile biljne čajeve, koji su imali kao sastojak i aristolohiju oboljele su od nefropatije, a neke su dobile i rak mokraćnih puteva. Nefropatija je u Kini, čini se, nuspojava kod liječenja bolesnika tradicionalnim čajevima koji sadrže i ovu biljku. Pokusne životinje otrovane aristolohijom oboljevaju od nefritisa. Što je još interesantnije, neke od njih su osjetljive, dok druge prežive i velike doze ovog otrova bez značajnih posljedica.

Da bi dobio odgovor na ovo pitanje, dr. Grollman sakuplja uzorke hrane, prije svega brašna, s ugroženog područja i analizira ih na prisustvo aristolohijske kiseline. Odgovor je pozitivan. Ali to nije dovoljno, jer vučja stopa raste svuda po Slavoniji, ali ne truje sve, nego samo stanovnike ovog ograničenog područja.

Koji su genetski, naslijeđeni preduvjeti za nefropatiju, a koji za rak? Da bi dobio odgovor na ovo pitanje, dr. Grollman sakuplja uzorke krvi i urina bolesnika oboljelih od nefropatije. Ali to nije dovoljno za statističku obradu podataka i znanstvenu evaluaciju, potrebni su kontrolni uzorci. I to ne samo od zdravih članova njihove obitelji, nego i od zdravih susjeda. Za konačnu kontrolu treba sakupiti uzorke od stanovništva koje živi pod sličnim uvjetima u kraju koji je geografski udaljen od endemskog područja. Zahvaljujući velikom zalaganju epidemiologa iz Zavoda za javno zdravstvo Brodsko-posavske županije u Slavanskom Brodu i liječnika brodske bolnice uspio se sakupiti dovoljan broj uzoraka za ovu analizu. Treba spomenuti i veliko zalaganje mladih liječnika, koji su tek završili svoj studij u Zagrebu ili Stony Brook-u, i koji su zajedno sa starijim kolegama obilazili teren i razgovarali s bolesnicima. Jeste li znali da mi, Hrvati, studiramo medicinu i u Stony Brook-u!? Da, i tamo nas ima, a što je važnije, uvijek smo spremni pomoći i vratiti se u domovinu, kao nasa kolegica Tjaša Hranjec, koja je bila i prevodilac i posrednik između sofisticiranih američkih stručnjaka i naših bolesnika. Ove godine, u lipnju, dr Grollman dolazi u Zagreb i na Medicinskom fakultetu referira o prvim rezultatima svog istraživanja. Aristolohijska kiselina sve više dolazi u centar pažnje kao uzročnik ovog trovanja. I čini se da određeno naslijeđe, genotip, doprinosi osjetljivosti bolesnika na ovaj otrov iz okoliša. Na žalost, još nije vrijeme za euforiju, još smo daleko od konačnog odgovora na pitanje što je uzrok ove bolesti. I još smo dalje od njenog liječenja. Ali učinjeni su prvi koraci u tom smjeru.

Istraživanje genoma, nasljeđa zabilježenog u ljudskim kromosomima i njihovim sastavnim dijelovima - genima, dobiva se samo djelomičan odgovor zašto izgledamo kako izgledamo, zašto smo zdravi ili bolesni, zašto smo osjetljivi na jednu ili otporni na drugu bolest. Veliko je bilo iznenađenje, kad se analizom našeg nasljednog materijala - genoma, utvrdilo da čovjek ima "samo" otprilike trideset tisuća gena. Očekivalo se mnogo više. Ali naše stanice imaju nama teško zamislivu mogućnost da te poruke, nakon što ih pročitaju, prekrajaju i kombiniraju. Tako da broj proteina, konačnih proizvoda ovog kompliciranog sustava ide u stotine tisuća. A proteini se daju opet dalje prekrajati, kombinirati, modificirati. **Proteomics** je nova disciplina koja se bavi proučavanjem raznolikosti i osobina naših stanica, tkiva i organa na razini njihovih osnovnih sastavnih dijelova, proteina. Proteini su enzimi, proteini su osnovni sastojci naše krvi i ostalih tkiva, proteini su odgovorni za funkcije naših stanica, i konačno, proteini kontroliraju funkcioniranje našeg nasljednog materijala, genoma. A genom je, pak, odgovoran za njihovu sintezu. Drugim riječima, vođeni genomom, proteini su programirani da ga i kontroliraju. Nedostatak ključnih proteina može izazvati smrt, ili pak teške posljedice za organizam, koje često rezultiraju bolestima. Te bolesti mogu biti nasljedne, ali ih se isto tako može dobiti poremećajem genoma tijekom života. Zato je proučavanje proteoma postalo jedan od važnih zadataka suvremene medicine.

Zar se to nije i prije znalo? A ako se je znalo, zašto se to tek sada radi? Za analizu proteoma i genoma potrebne su veoma komplicirane tehnike. Kod uzoraka tkiva, često imamo na raspolaganju tek nekoliko stotina stanica. Ove analize su postale moguće tek s razvitkom tehnologije, koja omogućava dobivanje potrebnih informacija iz tako malo materijala – iz jedne kapi krvi, na primjer. Živi organizmi su komplicirani sustavi, a ljudski organizam je jedan od najkompliciranijih s tisućama, milijunima varijacija. Koje od njih su značajne, signifikantne, a koje su slučajne? Odgovor na ta pitanja može se dobiti tek analizom velikog broja uzoraka. Za to je potrebna njihova brza analiza. Brza i pouzdana analiza moguća je samo uporabom kompliciranih strojeva, laboratorijskih robota koji su kompjutorski kontrolirani. Brdo podataka, koje se dobiva iz ovih analiza treba statistički obraditi. I to je posao kompjutora. Ni proteomics- niti genomics-analize nisu moguće bez brze analize velikog broja uzoraka i kompjutorske obrade dobivenih podataka.

Osobno - tada, 1964. godine nisam znao da s odlaskom na studij u Zagreb zauvijek napuštam Slavonski Brod. Poslije studija, bio sam kratko vrijeme u "Plivi", pa u Berlinu, gdje sam i doktorirao, a specijalizirao u National Institute of Health (NIH) u Bethesda, SAD. Vratio sam se u Berlin, gdje sam radio deset godina na Medicinskom fakultetu, ali veza je ostala. U Brod sam dolazio jedan-dva puta

godišnje, a 1991. godina je bila odlučujuća za moj odnos s ovim gradom, kojem mnogo dugujem. Majka mi se razboljela, a htjela je ostati kod kuće. Tako sam, htio ne htio, morao u bolnicu i morao sam kontaktirati sa liječnicima koji su mi prišli kao svom. Moju majku, na žalost, nismo mogli spasiti. Umrla je 1992. godine, ali suradnja i prijateljstvo sa liječnicima su ostali. Što li smo sve učinili u tim teškim godinama!? Sada to više ne bi bilo moguće, ali smo u to vrijeme, u nevolji - spašavali živote.

1990 godine, prilikom mog prvog posjeta Medicinskom centru, prije rata bilo je govora i o endemskoj nefropatiji. Sjećam se, u svibnju 1991. godine sam u NIH počeo s preliminarnim razgovorima o započinjanju suradnje na tom polju. Ideje padoše u zaborav, ili bijahu jednostavno potisnute okupacijom istočne i zapadne Slavonije, ratom u Bosni i teškim bombardiranjem Slavenskog Broda.

I evo me opet nazad! Dr. Grollman iz Stony Brook-a i Dr. Bistrović, Dr. Miletić-Medved i Dr. Đanić iz Broda prišli su mi s idejom o suradnji. Trebao bih u svom laboratoriju napraviti proteomics analize. Uzorke krvi i urina koji su već sakupljeni analizirati i usporediti pacijente sa endemskim nefritisom i zdrave osobe. Nakon analize i kompjutorske obrade podataka pronaći supstance koje su karakteristične za bolesne osobe, a nema ih kod zdravih. Dug je to posao. Treba analizirati stotine uzoraka urina i krvi, usporediti ih i tražiti "kandidate", pa ih onda lokalizirati i konačno identificirati - pronaći supstance, koje bi se mogle upotrijebiti za ranu dijagnozu nefropatije. Ili još bolje, pronaći supstance koje dolaze u urinu i krvi osoba koje su u opasnosti da obole od te bolesti - da bi se ona mogla preduhitriti i prevenirati. I konačno, analizom malignog tkiva i usporedbom sa zdravima pronaći supstance koje dolaze u tom tkivu. Ovim bi se omogućilo otkrivanje malignih promjena kod bolesnika s dijalize u njihovom početku. U kombinaciji s radom dr. Grollmana, ovi bi nam rezultati pomogli da bolje upoznamo zagonetnu bolest i da krenemo ne jedan, nego nekoliko koraka u smjeru njenog suzbijanja, sprječavanja i odgovarajuće terapije.

Za suradnju među tako različitim institucijama, laboratorijima s kompliciranom i različitom opremom, i što je najvažnije, među ljudima tako različitim jezika i navika, potrebni su posrednici koji će razumjeti sve strane kako znanstveno tako i ljudski. A tko je najpogodniji? Vjerujem - mladi ljudi, puni energije i svježine, tek došli sa Sveučilista. Jedna mlada kolegica iz Slavenskog Broda je u mom laboratoriju. Tek je došla iz Zagreba, bila je uzoran student, dobro zna engleski, a fascinirana je robotima, kompjutorima i ostalim "mašinama" u mom laboratoriju i rado uči kako njima rukovati. Za tjedan dana idemo u Stony Brook, da vidi dr. Grollmanov odjel. Već ga je upoznala u Hrvatskoj. Ona je idealan mladi znanstveni radnik za ovaj komplicirani posao koji će uz moju pomoć savladati i uvesti se u novi svijet medicinske biokemije.

Kontakt: Djuro Josic, PhD  
Professor Medicine (Research)  
Brown University Medical School  
Director  
Proteomics Core  
COBRE Center for Cancer Research Development  
Providence, RI 02903, USA  
Phone: x1 401 444 44 27  
Fax: x1 401 793 89 08  
e-mail:djuro\_josic@brown.edu