



ENDEMIC NEPHROPATHY – A DISEASE THAT REQUIRES FURTHER RESEARCH

ENDEMSKA NEFROPATIJA – BOLEST KOJA ZAHTEVA DALJA ISTRAŽIVANJA

Ljubica Đukanović¹

¹ University of Belgrade, Faculty of Medicine, Serbia

Correspondence: ljubicadjukanovic@yahoo.com

ABSTRACT

Endemic nephropathy (EN) is a chronic, tubulointerstitial disease, described 60 years ago in the localized regions of the South-East Europe. In spite of numerous studies, the disease still attracts attention of researchers due to a great number of unanswered questions. This study is dedicated to some of those questions.

Extensive field research, conducted in all endemic regions, showed the different disease prevalence rates, ranging from 0.3% to 10%. At the beginning of this century, the controversial opinions concerning the disease prevalence occurred, from the assumption that the disease disappears, to the data that the incidence does not change significantly. These differences occur due to a small number of studies conducted over the past thirty years and due to mass migrations from the endemic villages. That is the reason for the lack of exact data on EN prevalence in the endemic regions and for the lack of data on emigrants from endemic regions suffering from EN.

EN is a family disease occurring only in the particular foci, thus it is considered that genetic factors, as well as environmental factors, are included in the occurrence of the disease. Currently, there are three hypotheses of EN etiology. One of the oldest assumptions about EN etiology is the one of ochratoxin A, a widely spread mycotoxin. Most of the attention is paid to aristolochic acid as an EN cause, but it is not excluded that, polycyclic aromatic hydrocarbons and other toxic compounds originating from lignite are causes of EN.

Thus far, studies have not found out any biomarker which possesses enough specificity and sensitivity to discover and diagnose EN. Therefore, criteria have been defined, consisting of epidemiological, clinical and laboratory parameters which have enabled diagnosis of EN. Over the past decades, various research teams used different diagnostic criteria, thus aggravating results comparison. As a result, a group of experts have recently made a recommendation for screening, diagnosis, classifications and treatment of EN. However, since there is no pathognomonic biomarker for EN, the diagnosis of the disease is established on the basis of proving the presence of defined criteria and excluding other kidney diseases. It indicates that a search for the specific biomarker should be continued.

Even after 60 years of endemic nephropathy studies, there are still unanswered questions which require further research by applying contemporary methods.

SAŽETAK

Endemska nefropatija (EN) je hronična, tubulointersticijalna bolesti opisana pre 60 godina u ograničenim područjima Jugoistočne Evrope. Upkos brojnim istraživanjima ova bolesti i dalje privlači pažnju istraživača zbog većeg broja nerešenih pitanja. Nekima od tih pitanja posvećen je ovaj rad.

Obimna terenska istraživanja sprovedena sedamdesetih godina prošlog veka u svim područjima ugroženim EN su pokazala različitu prevalenciju bolesti koja se kretala od 0,3% do 10%. Početkom ovog veka pojavila su se oprečna mišljenja o incidenciji bolesti, od pretpostavke da bolest iščezava do podataka da se incidencija ne menja značajno. Ove razlike su nastale kako zbog malog broja skrining studija urađenih tokom prethodnih 30 godina, tako i zbog velikih migracija stanovnika iz endemskih sela. Zato nema tačnih podataka o prevalenciji EN u endemskom područjima, a ni podataka o obolevanju emigranata iz endemskih naselja.

EN je porodična bolest koja se javlja samo u pojedinim žarištima pa se zato smatra da u njenom nastanku učestvuju genetski činioci i činioci spoljne sredine. Danas su aktuelne tri hipoteze o etiologiji EN. Jedna od najstarijih je ona o ohratoksinu A ali se najviše pažnje poklanja aristolohijskoj kiselini kao uzorku EN. Nije isključeno da su policiklični aromatični ugljovodonici i druga toksična organska jedinjenja poreklom iz lignita uzročnici EN.

Dosadašnja istraživanja nisu otkrila nijedan biomarker koji bi imao dovoljnu specifičnost i senzitivnost za otkrivanje i dijagnozu EN. Zato su definisani dijagnostički kriterijumi, koji predstavljaju kombinaciju epidemioloških, kliničkih i laboratorijskih parametara. Tokom proteklih decenija različite istraživačke grupe su koristile različite dijagnostičke kriterijume, što je otežavalo poređenje rezultata. Zbog toga je nedavno grupa ekpserata donela usaglašene preporuke za skrining, dijagnozu, klasifikaciju i lečenje EN. Međutim, kako ne postoji patognomoničan biomarker za EN, dijagnoza bolesti se postavlja na osnovu dokazivanja prisustva definisanih kriterijuma i isključivanja drugih bolesti bubrega. To ukazuje da traganje za specifičnim biomarkerom EN treba nastaviti.

Sve to govori da i posle 60 godina istraživanja EN postoje nerešena pitanja koja zahtevaju dalja istraživanja primenom savremenih metoda.

Endemska nefropatija (EN), koja se u međunarodnoj naučnoj literaturi najčešće naziva Balkanska nefropatija ili Balkanska endemska nefropatija, porodično je, hronično, tubulointersticijalno oboljenje bubrega od koga oboleva seosko stanovništvo ograničenih regiona Jugoistočne Evrope. Opisali su je krajem pedesetih godina 20. veka Tančev i saradnici (1) u Bugarskoj i Danilović i saradnici (2) u Srbiji, nezavisno jedni od drugih. Danilović je ovu bolest prvi put zapazio u okolini Lazarevca, u selu Dudovica, gde je 1941. godine bio lekar, i bio prvi koji je o ovome upoznao međunarodnu naučnu javnost (3). To je podstaklo intenzivna istraživanja EN u svim njenim žarištima, a najveći broj tih istraživanja je sproveden sedamdesetih i osamdesetih godina prošlog veka (4). Tokom devedesetih godina istraživanja EN su gotovo zamrla zbog poznatih zbivanja na Balkanu. Danas, kada se interesovanje za ovu bolest ponovo probudilo, pored starih dilema i nerešenih pitanja, pojavila su se i nova pitanja koja čekaju odgovor. S druge strane, razvoj savremenih metoda pruža mogućnost da se istraživanjima ove bolesti pristupi na potpuno novi način, nedostupan ranijim istraživačima.

U ovom radu biće istaknuto nekoliko nerešenih pitanja o EN koja zahtevaju dalja istraživanja. Endemska nefropatija je bolest našeg podneblja. S obzirom na to da se najveći broj endemskih žarišta nalazi u našoj zemlji, to obavezuje da njenom istraživanju posvetimo punu pažnju.

DA LI SU POZNATE INCIDENCIJA I PREVALENCIJA ENDEMSKE NEFROPATIJE?

Posle prvih opisa EN sprovedena su obimna terenska istraživanja koja su imala za cilj da se utvrdi prevalencija bolesti. Dobijeni podaci o prevalenciji EN u pojedinim žarištima bili su, međutim, vrlo različiti, što je delom nastalo zbog razlika u metodologiji ispitivanja i korišćenim kriterijumima za dijagnozu bolesti (4). Pregled različitih izveštaja otkriva da se prevalencija kreće od 0,3% do 10% (5-10). Početkom ovog veka pojavili su se radovi o smanjivanju incidencije EN, pa se čak pretpostavilo da će bolest s vremenom iščeznuti (11, 12). Ipak, sami autori ovih radova ističu da ove podatke treba proveriti. Dimitrov i saradnici (12) navode da je registrovanje EN poslednjih godina nepotpuno, kao i da su migracije iz endemskih sela značajno uticale na incidenciju bolesti. Na značajan uticaj migracija na incidenciju EN ukazali su i istraživači iz Srbije: u nekim krajevima povećao se broj bolesnika sa EN zbog dolaska stanovnika iz endemskih sela na Kosovo, dok se u drugim krajevima broj neprekidno smanjuje zbog značajnog iseljavanja stanovnika (13). Čukuranović i saradnici (11) prikazali su smanjivanje incidencije terminalne insuficijencije bubrega uzrokovane EN u Niškom

regionu, što, međutim, ne mora da bude odraz smanjene incidencije bolesti. Bukvić i saradnici (14) pokazali su da je progresija hronične insuficijencije bubrega kod bolesnika sa EN spora, pa mnogi bolesnici ne dožive terminalnu insuficijenciju bubrega nego umiru u ranijim stadijumima bolesti zbog drugih uzroka, najčešće kardiovaskularnih bolesti.

Nasuprot podacima o smanjenju incidencije EN stoje podaci grupe iz Lazarevca koja je pokazala da se posle 20-30 godina od prvih studija skrininga u području Kolubare prevalencija EN nije značajno promenila (15, 16). Ovi su rezultati izazvali sumnju (17), ali je izračunavanje standardizovane stope incidencije u periodu 1977–2009. pokazalo da se incidencija EN značajno smanjivala u periodu 1977-1989, a povećavala, mada neznajno, u sledećem desetogodišnjem periodu (18). Ova analiza je takođe pokazala da su velike varijacije u incidenciji EN tokom četrdesetogodišnjeg perioda bile povezane sa studijama skrininga. Posle veoma obimnih studija skrininga početkom sedamdesetih godina prošlog veka, skrining u endemskim selima nije rađen preko dve decenije, a ponovljen je u periodu između 1990. i 2002. godine samo u tri sela u opštini Lazarevac. Tada su otkriveni mnogi novi bolesnici, što je uticalo na stopu incidencije u godinama skrininga (15, 16, 19). To ukazuje da bez obimnih i redovnih studija skrininga u endemskim naseljima ne mogu pravilno da se procene incidencija i prevalencija EN. S druge strane, velike migracije iz sela u gradove, kao i velike migracije tokom devedesetih godina 20. veka na prostorima Jugoslavije, zahtevaju nova istraživanja EN u porodicama migranata, kako onih koji su se iselili iz endemskih žarišta, tako i doseljenika u endemska žarišta. Svi ovo podaci pokazuju da epidemiologija EN zahteva dalja detaljna i obimna istraživanja.

ENDEMSKA NEFROPATIJA I TUMORI GORNJEG UROTELIJUMA

Jedna od veoma značajnih karakteristika EN je njena udruženost sa izrazito visokom učestalošću malignih tumora gornjih mokraćnih puteva, koja je zapažena još u prvom opisu bolesti (2). Kasnije je istaknuto da je prevalencija malignoma gornjeg urotelijuma i oko 100 puta veća u endemskim u odnosu na neendemska područja (20, 21), iako se ova razlika poslednjih decenija smanjuje (22, 23). Česta pojava tumora gornjih mokraćnih puteva u porodicama opterećenim EN ukazala je na povezanost ove dve bolesti. Tumori se najčešće javljaju kod bolesnika koji već boluju od EN, od kojih je 50% već u stadijumu hronične insuficijencije bubrega. Tumori se javljaju i kod onih kod kojih bolest prethodno nije bila poznata (20-25). Povezanost EN i tumora gornjih mokraćnih puteva ukazala je da ove bolesti nastaju kao posledica dejstva istog etiološkog faktora, ali ostaje nedovoljno jasno od čega zavisi i da li će se i kada kod osoba iz porodica opterećenih EN javiti nefropatija ili tumor.

DA LI JE ETIOLOGIJA ENDEMSKE NEFROPATIJE REŠEN PROBLEM?

Etiologiji EN posvećena su brojna istraživanja. Još su prva istraživanja o EN istakla da je to porodična bolest koja se javlja samo u pojedinim žarištima, što je potvrđeno i mnogim narednim istraživanjima. Zbog toga se smatra da u nastanku ove bolesti učestvuju genetski činioci i činioci spoljne sredine. Kao mogući uzročnici iz spoljne sredine ispitivani su različiti mikroelementi (olovo, kadmijum, silicijum), organske supstance i hemijski sastojci vode, a od živih agensa sporodelujući virusi, leptospire i mikotoksini. Njihova uzročna povezanost sa EN, međutim, nije dokazana. Nije potvrđena ni pretpostavka da nedostatak selena može da doprinese nastanku bolesti (4).

Danas su aktuelne tri hipoteze o etiologiji EN. Najviše pažnje kao uzorku EN poklanja se aristolohijskoj kiselini. Još je 1969. godine Ivić (26) pretpostavio da korovska biljka *Aristolochia clematitis*, u našem narodu poznata kao vučja šapa, može da bude uzrok EN. On je zabeležio da se ova biljka često nalazi u žitnim poljima endemskih sela, a na eksperimentalnom modelu je dokazao oštećenje bubrega kod životinja kojima su u hranu dodate semenke ove biljke. Ova pretpostavka je zaboravljena sve dok se početkom devedesetih godina nije pojavila bolest bubrega kod žena koje su pile čaj za mršavljenje (27). Bolest je tada nazvana nefropatija kineskog čaja (eng. Chinese herb nephropathy), a karakterisala ju je rapidno progresivna intersticijalna fibroza koja je brzo vodila u hroničnu insuficijenciju bubrega i bila često udružena sa karcinomima gornjih mokraćnih puteva. Dokazano je da je aristolohijska kiselina glavna nefrotoksična komponenta biljaka iz roda *Aristolochia* i da je ona odgovorna za nastanak bolesti kineskog čaja (28). Bolest je dobila naziv aristolohijska nefropatija (engl. Aristolochic acid nephropathy, AAN), a pokazalo se da se javlja širom sveta (29). Uočene su velike sličnosti između AAN i EN, pa je predloženo da se naziv AAN koristi za obe bolesti (30). Sporija progresija EN u odnosu na AAN objašnjava se manjom dozom aristolohijske kiseline koju unose osobe u područjima opterećenim EN. Naime, pretpostavlja se da stanovnici ovih područja unose aristolohijsku kiselini u proizvodima od brašna koje je pripremljeno mlevenjem pšenice u kojoj se nalaze i semenke *Aristolochiae clematitis*, a to je manja doza aristolohijske kiseline od one u biljnim čajevima. Izloženost stanovništva endemskih područja aristolohijskoj kiselini potvrđena je prisustvom aristolaktam-DNK-konjugata u bubrežnom tkivu bolesnika sa EN (31). Nakon toga je utvrđena A:T u T:A transverziona mutacija humanog p53 tumorskog supresornog gena u korteksu bubrega i tkivu malignih tumora urotelijuma bolesnika iz endemskih, ali ne i onih iz neendemskih područja (32). Autori ovih istraživanja zaključuju da je kod genetski osetljivih osoba izloženost aristolohijskoj kiselini uzročno povezana sa EN i karcinomima gornjeg urinarnog trakta udruženih s ovom bolešću. Upravo ovaj pažljivo formulisan zaključak ukazuje da su, s jedne strane, neophodne dalje potvrde nalaza

ove grupe istraživača, a s druge strane, da treba tragati za suštinskim uzrocima genetske predispozicije za nefrotoksično dejstvo aristolohijske kiseline. Ostaje takođe nejasno zašto se EN javlja kao endemska bolest na Balkanu, ako biljke iz roda aristolohije rastu širom sveta.

Jedna od najstarijih pretpostavki o etiologiji EN je ona o ohratoksinu A, široko rasprostranjenom mikotoksinu. Poznato je da ohratoksin A uzrokuje mikotoksičnu nefropatiju svinja (33), bolest koja ima mnogo sličnosti sa EN. To je vodilo ka pretpostavci da ingestija i malih doza ohratoksina A hranom tokom vremena može da izazove oštećenje bubrega (34). Za sada nema sigurnih dokaza da ohratoksin izaziva oboljenje bubrega kod ljudi. Ipak, kod bolesnika sa tubulointersticijalnom nefropatijom opisanim u Tunisu, koja ima mnoge sličnosti sa EN, otkrivene su povećane koncentracije ohratoksina A u uzrocima seruma bolesnika, kao i u namirnicama koje su uzimali (35). Ohratoksin A je otkriven i u serumu bolesnika sa EN, ali i u serumu zdravih osoba, ne samo u područjima sa EN nego i širom Evrope. Kontaminacija namirnica ohratoksinom A je dokazana u mnogim zemljama, kako u onima sa EN, tako i u onima u kojima ova bolest nije opisana (36-38). U tkivu bubrega bolesnika iz Bugarske, Hrvatske, Srbije, Francuske i Belgije otkriveni su konjugati DNK i ohratoksina A (39) kao i kod bolesnika sa EN i tumorima gornjeg urotelijuma iz Bugarske (40). Ponovo treba istaći da ne obolevaju sve osobe izložene ohratoksinu A od EN ili tumora urotelijuma, što ukazuje na to da individualna osetljivost na ovaj mikotoksin ima značajnu ulogu u nastanku bolesti. Ova individualna osetljivost mogla bi da bude posledica individualnih razlika u detoksikaciji ohratoksina A, a nedavno je pokazano da je koncentracija ohratoksina A povećana u serumu bolesnika sa EN u odnosu na njihove potomke i kontrolnu grupu (41).

Treći pretpostavljeni uzrok EN su policiklični aromatični ugljovodonici (engl. polycyclic aromatic hydrocarbons) i druga toksična organska jedinjenja poreklom iz lignita koji dospevaju u pijaću vodu, a od kojih su mnogi poznati kao kancerogeni. Na ovo su ukazali Feder i saradnici (42) još pre više od 20 godina, kada su ustanovili da su mnoga endemska naselja smeštena u blizini pliocenih lignita. Mladi ugalj s vremenom stvara kompleksnu mešavinu u vodi rastvorljivih ugljovodonika koji su dokazani u pijaćoj vodi plitkih bunara seoskih domaćinstava. Iako su ove koncentracije bile niske, pretpostavilo se da dugogodišnja izloženost ovim jedinjenjima može da dovede do oboljenja bubrega. Nekoliko grupa istraživača je potvrdilo povećanu koncentraciju različitih organskih jedinjenja poreklom iz lignita u pijaćoj vodi iz endemskih sela (43, 44). Nasuprot tome Vojs (*Voice*) i saradnici (45) našli su u pijaćoj vodi u endemskim selima Bugarske nisku koncentraciju policikličnih aromatičnih ugljovodonika koja nije prelazila granicu standarda i nisu našli razliku između endemskih i neendemskih naselja. To pokazuje da hipoteza o etiološkoj ulozi policikličnih aromatičnih ugljovodonika i drugih organskih jedinjenja poreklom iz lignita u nastanku EN nije ni dokazana ni opovrgnuta i zato zahteva dalja

istraživanja.

Za sve tri pretpostavke postoje dokazi, ali i nedostaci koji zahtevaju njihovu dalju proveru. Bez obzira na to koji etiološki faktor iz spoljne sredine učestvuje u nastanku EN, nesporno je da je za nastanak bolesti neophodna i individualna osetljivost na taj faktor. Zato je neophodno nastaviti istraživanja koja će rasvetliti koje su to specifične karakteristike osoba koje ih čine sklonim za nastanak EN. Poslednjih nekoliko godina mnogo pažnje se posvećuje istraživanjima polimorfizma različitih gena, posebno gena koji kodiraju enzime uključene u metabolizam aristolohijske kiseline i ohratoksina A (46-49).

BIOMARKERI ZA DIJAGNOZU ENDEMSKE NEFROPATIJE

Endemska nefropatija je hronična tubulointersticijalna bolest koja počinje neprimetno i napreduje sporo i asimptomatski, pa se bolesnici najčešće javljaju lekaru u već odmaklom stadijumu bolesti. Zbog toga je već u prvim decenijama istraživanja EN istaknuto da je neophodno redovno sprovođenje skrininga ugroženih populacija u cilju ranog otkrivanja bolesti (50). Rano otkrivanje i tačna dijagnoza bolesti zahtevali su da se pronađu specifični biomarkeri EN i definišu kriterijumi za dijagnozu bolesti. Višedecenijska istraživanja nisu, međutim, otkrila nijedan biomarker koji bi imao dovoljnu specifičnost i senzitivnost za otkrivanje i dijagnozu EN. Zato su definisani kriterijumi koje čini kombinacija epidemioloških, kliničkih i laboratorijskih parametara i koji su omogućavali dijagnozu. Prvi kriterijumi su definisani na sastanku koji je organizovala Svetska zdravstvena organizacija i na kom su vodeći istraživači EN definisali dijagnostičke kriterijume na osnovu detaljne analize dotadašnjih rezultata (5). Posle prvih obimnih terenskih istraživanja, Danilović i saradnici (50) definisali su kriterijume koji su u našoj zemlji najduže korišćeni. Prema ovim kriterijumima, dijagnoza EN može da se postavi ako su to (1) zemljoradnici iz ugroženih naselja i imaju (2) pozitivnu porodičnu anamnezu o EN, (3) blagu proteinuriju, (4) nisku specifičnu težinu mokraće, (5) anemiju, normohromnu ili hipohromnu, (6) retenciju azotnih jedinjenja u krvi (urea > 50 mg%, kreatinin > 1,5 mg%) i (7) simetrično smanjene bubrege.

Koristeći ove kriterijume, Danilović i saradnici (50) predlažu podelu bolesnika u terenskom ispitivanju u sledeće grupe:

1. grupu sa intermitentnom proteinurijom i pozitivnom porodičnom anamnezom, u koju se ubrajaju oni koju ispunjavaju najmanje tri prva kriterijuma;
2. grupu suspektnih, koji, pored prva tri kriterijuma, ispunjavaju najmanje još jedan od preostala tri kriterijuma;
3. grupu bolesnih, koji ispunjavaju najmanje 5 od 6 kriterijuma;
4. grupu dekompenzovanih, koji ispunjavaju

Tabela 1. Kriterijumi za dijagnozu endemske nefropatije (EN) koje su definisale i koristile pojedine grupe istraživača

Kriterijumi	SZO Memorandum 1965 (5)	Danilović i sar. 1981 (50)	Puhlev i sar. 1981 (52)	Stefanović, 1983 (53)	Čvorišćec i sar. 1983 (54)	Jelaković i sar. 2013 (55)
Stanovnik endemskog sela > 18 godina		+	+	+	+	
Porodična anamneza o EN	+	+	+	+	+	
Proteinurija		+	+	+	+ ili NMP	
NMP proteinurija	+			+	+ ili proteinurija	+
Oskudan sediment urina				+		
Niska specifična težina urina		+	+			
Poremećaji funkcije proksimalnih tubula				+		+
Anemija	+	+	+	+	+	+
Azotemija	+	+			+	
Smanjena veličina bubrega	+			+		
Isključene druge bolesti bubrega	+	+	+	+		+

najmanje 5 od 6 kriterijuma, a kod kojih je urea iznad 150 mg% i koji već ispoljavaju značke uremije.

Otkriće beta 2-mikroglobulina, proteina male molekulske mase, koji se kod zdravih osoba gotovo potpuno apsorbira u proksimalnim tubulima, preporučilo je ovaj niskomolekularni protein kao biomarker EN, hronične tubulointercijalne bolesti (51). Zbog toga su niskomolekularni proteini uvršćeni među kriterijume za dijagnozu EN. Tokom proteklih decenija različite istraživačke grupe koristile su različite dijagnostičke kriterijume, što je otežavalo poređenje rezultata (52 -55).

Kako nijedan od biohemijskih biomarkera nije imao dovoljnu specifičnost i senzitivnost, tragalo se za pouzdanijim biomarkerima, pa su ispitivani mnogi urinarni biomarkeri: alfa 1-mikroglobulin, aminokiseline, brojni enzimi, laki lanci imunoglobulina, glikozaminoglikan, Tam-Horsfalov (*Tamm-Horsfall*) protein, cistatin C, transformišući faktor rasta i dr. (56). Nijedan od tih biomarkera nije pokazao veću specifičnost i senzitivnost od već poznatih, pa se dijagnoza EN postavljala kombinacijom epidemioloških, kliničkih i laboratorijskih kriterijuma i isključivanjem drugih bolesti bubrega (**tabela 1**).

Većina kriterijuma za dijagnozu EN predložena je već prvih decenija istraživanja ove bolesti. Ponovna evaluacija ovih kriterijuma pokazala je da neki od njih, posebno oni koji predstavljaju karakteristike hronične insuficijencije bubrega (azotemija, niska specifična težina, anemija),

ne ispunjavaju uslove da budu korišćeni kao biomarkeri EN zbog niske specifičnosti (57, 58). Bilo je neophodno da se ponovno analiziraju svi predloženi biomarkeri i kriterijumi za dijagnozu EN da bi mogla da se definiše najpouzdanija kombinacija kriterijuma (59). Grupa eksperata je, posle nekoliko radnih sastanaka, donela „usaglašen izveštaj“ koji je napisan u vidu preporuka i u kom su dati stavovi i algoritmi za skrining, dijagnozu, klasifikaciju i lečenje EN (engl. *Consensus statement on screening, diagnosis, classification and treatment of Balkan nephropathy*) (55). U tim preporukama su najpre definisani najbitniji biomarkeri za dijagnozu EN: jačina glomerulske filtracije (engl. *estimated glomerular filtration rate*, eGFR) definisana prema KDIGO vodiču (60), odnos albumina i kreatinina u urinu (normalno < 30 mg/g) i alfa 1-mikroglobulin kao indikatora disfunkcije proksimalnih tubula sa tačkom preseka (engl. *cut-off*) od 23,5 mg/g kreatinina za skrining, a 31,5 mg/g kreatinina za potvrdu dijagnoze EN. Na osnovu ovako definisanih biomarkera i prethodnih studija dijagnostičkih kriterijuma, predloženo je da se dijagnoza EN postavlja kada:

1. postoji dokaz da je smanjena funkcija proksimalnih tubula dominantna karakteristika bolesti;
2. postoji anemija, ali je isključeno da je ona uzrokovana drugim uzrocima, a ne EN;
3. isključene su druge bolesti bubrega;
4. isključena je izloženost nekom drugom spoljnom nefrotoksičnom agensu, a ne aristolohijskoj kiselini (55).

Preporuke polaze od stava da je EN aristolohijska nefropatija, da se ne pojavljuje samo na Balkanu nego širom sveta, pa u kriterijume nisu uvršćeni epidemiološki kriterijumi (stanovanje u endemskom mestu preko 18 godina, porodična anamneza o EN). Iako su ove preporuke nedavno objavljene i u njihovom je definisanju učestvovala grupa istraživača koji se decenijama bave EN, sama činjenica da je jedan od kriterijuma za dijagnozu EN isključenje drugih bolesti bubrega ukazuje da i dalje ne postoji patognomoničan biomarker za dijagnozu EN i da je neophodno i dalje tragati za specifičnim i senzitivnim biomarkerom. Pored toga, neophodno je da se u novim studijama, koje će obuhvatiti veliki broj bolesnika sa EN i kontrolne grupe bolesnika sa drugim bolestima bubrega, kao i grupe zdravih osoba, proceni pouzdanost ovako definisanih kriterijuma. Sve to ukazuje na to da su kriterijumi za dijagnozu EN i dalje kamen spoticanja u istraživanju ove bolesti.

ZAKLJUČAK

Endemska nefropatija je opisana pre 60 godina. Brojna istraživanja su bila posvećena različitim aspektima ove bolesti. I danas, ipak, ostaje nekoliko pitanja na koja nema definitivnog odgovora i koja zahtevaju dalja istraživanja. Jedno od ključnih pitanja su biomarkeri i kriterijumi za dijagnozu endemske nefropatije, jer od njihove pouzdanosti zavise rezultati svih ostalih istraživanja. Pretpostavke o etiologiji zahtevaju provere u kontrolisanim studijama sa što većim brojem ispitanika i uz primenu savremenih biohemijskih metoda i metoda molekularne biologije i genetike. Pažnju treba posvetiti i studijama migranata jer one mogu da doprinesu rešavanju problema etiologije bolesti. Udruženost endemske nefropatije i tumora gornjih mokraćnih puteva predstavlja još jedan izazov, a istraživanja uzročne povezanosti ovih bolesti mogu da donesu nova saznanja o mehanizmima nastanka malignih bolesti.

LITERATURA

1. Tanchev I, Evstatijev P, Dorosiev D, Penčeva Y, Cvetkov E. Proučavanja na nefritite v Vračanska okolija. *Savr med.* 1956; 7(9):14-25.
2. Danilović V, Djurišić M, Mokranjac M, Stojimirović B, Živojinović J, Stojaković P. Porodična oboljenja bubrega u selu Šopić izazvana olovom. *Srp arh cel lek.* 1957; 85:1115-1125.
3. Danilović V, Đurisić M, Mokranjac M, Stojimirović B, Živojinović J, Stojaković P. Nephrites chroniques provoquées par l'intoxication au plomb par voie digestive (farine). *La Presse Medicale* 1957; 65(90):2039-2040.
4. Radovanović Z. Epidemiology and aetiology of endemic nephropathy. In: Radovanović Z, Sindić M, Polenaković M, Djukanović Lj, Petronić V, editors. *Endemic Nephropathy*. Belgrade: Office for Textbooks and Teaching Aids; 2000. p. 22-152.
5. World Health Organization. Memorandum. The endemic nephropathy of South-Eastern Europe. *Bull World Health Organ.* 1965; 32:441-448.
6. Puchlev A. Endemic nephropathy in Bulgaria. In: Wolstenholme GEW, Knight J, editors. *The Balkan Nephropathy*. Ciba Foundation Study Group No. 30. London: Churchill; 1967. p. 28-39.
7. Radovanović Z. Topografska distribucija endemske nefropatije u SR Srbiji po naseljima. U: *Zbornik radova. III simpozijum o endemskoj nefropatiji*, Niš 1975. Beograd: Dokumenta Galenika; 1977. p. 30-39.
8. Gaon J, Dedić I, Aganović I, Mandić M, Telebak B. Epidemiološko ispitivanje endemske nefropatije na području SR Bosne i Hercegovine od 1957. do danas. In: *Danilovic V, urednik. Zbornik radova II Simpozijuma o endemskoj nefropatiji*, Beograd-Lazarevac 1977. Beograd: SANU; 1979. p. 9-25.
9. Velimirović D. Field investigation of the spread and frequency of endemic nephropathy in the region of Kolubara. *Acad Serbe Sciences Art Bull.* 1980; 69: 79-85.
10. Čević S, Pleština R, Miletić-Medved M, Stavljenić A, Mitar J, Vukelić M. Epidemiological aspects of Balkan endemic nephropathy in typical locus in Yugoslavia. In: *Castagnero M, Pleština R, Dirheimer G, Chernozemsky IN, Bartsch H, editors. Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumors*. Lyon: IARC Scientific Publications; 1991. p. 5-10
11. Čukuranović R, Petrović B, Čukuranović Z, Stefanović V. Balkan endemic nephropathy: a decreasing incidence of the disease. *Pathol Biol (Paris)*. 2000; 48: 558-561.
12. Dimitrov PS, Simeonov VA, Ganev VS, Karmaus WJ. Is the incidence of Balkan endemic nephropathy decreasing? *Pathol Biol (Paris)*. 2002; 50: 38-41.
13. Djukanović L, Stefanović V, Basta-Jovanović G, Bukvić D, Glogova S, Dimitrijević J, i sar. Istraživanja Balkanske endemske nefropatije u Srbiji: kako dalje? *Srp arh celok lek.* 2010; 138(34): 256-261.
14. Bukvic D, Jankovic S, Maric I, Stosovic M, Arsenovic A, Djukanovic L. Today Balkan endemic nephropathy is a disease of the elderly with a good prognosis. *Clin Nephrol.* 2009; 72(2):105-113.
15. Bukvić D, Janković S, Arsenović A, Djukanović L. Balkan endemic nephropathy is still present in the Kolubara region, Serbia. *Ren Fail.* 2005; 27:565-569.
16. 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; 30:117-123.
17. Radovanović Z. Epidemiološka istraživanja endemske nefropatije – dokle se stiglo i kuda dalje? U: *Djukanović Lj, Ristić S, urednici. Savremena istraživanja endemske nefropatije*. Foča: Medicinski fakultet Univerziteta Istočno Sarajevo; 2009: 117-130.
18. Janković S, Bukvić D, Marinković J, Janković J, Marić I, Djukanović Lj. Time trends in Balkan endemic nephropathy incidence in the most affected region in Serbia, 1977–2009: the disease has not yet disappeared. *Nephrol Dial Transplant.* 2011; 26:2171-2176.
19. Janković S, Bukvić D, Marinković J, Janković J, Marić I, Djukanović L. Trends in incidence and prevalence of Balkan endemic nephropathy in the three most affected villages in Serbia over a 36-year period. *Ren Fail.* 2013; 35(4):509-13.
20. Petković S, Mutavdžić M, Petronić V, Marković V. Les tumeurs du bassinet et de l'uretère. *Recherches cliniques et étiologiques. J Urol Néphrol.* 1971; 6:429-439.
21. Petronić V, Bukurov N, Djokić M, Milenković DZ, Vuksanović AM, Avramović AD, et al. Balkan endemic

- nephropathy (BEN) and papillary transitional cell tumors of the renal pelvis and ureters (UTT): A follow-up study. *Kidney Int.* 1991; 40(Suppl 34):S77-79.
22. Petronić V. Tumors of the upper urothelium and endemic nephropathy. In: Radovanović Z, Sindjić M, Polenaković M, Djukanović Lj, Petronić V, editors. *Endemic nephropathy*. Office for Textbooks and Teaching Aids, Beograd, 2000.
 23. Markovic N, Ignjatovic I, Cukuranovic R, Petrovic B, Kocic B, Stefanovic V. Decreasing incidence of urothelial cancer in a Balkan endemic nephropathy region in Serbia. A surgery based study from 1969 to 1998. *Pathol Biol (Paris)*. 2005; 53:26-29.
 24. Bukvić D, Janković S, Marković-Denić Lj. Neke deskriptivno epidemiološke odlike osoba obolelih od malignih tumora gornjeg urotelijuma u endemskom regionu Lazarevca. *Srp arh cel lek.* 1999; 127:371-375.
 25. Bukvić D, Velimirović D, Marić I, Popović G, Trbojević S. Tumori urinarnog sistema kod bolesnika sa endemskom nefropatijom na hroničnoj hemodijalizi. *Srp arh cel lek.* 1995; 123:15-21.
 26. Ivic M. Etiologija endemske nefropatije. *Lijec Vjesn.* 1969; 91:1278-1281.
 27. Vanherweghem JL, Depierreux M, Tielemans C, Abramowicz D, Depierreux M, Vanhaelen-Fastre R, et al. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs. *Lancet* 1993; 341:387-391.
 28. Vanhaelen M, Vanhaelen-Fastre R, But P, Vanherweghem JL. Identification of aristolochic acid in Chinese herbs. *Lancet* 1994; 343:174.
 29. Debelle FD, Vanherweghem JL, Nortier JL. Aristolochic acid nephropathy: a worldwide problem. *Kidney Int.* 2008; 74(2):158-169.
 30. De Broe ME. Chinese herbs nephropathy and Balkan endemic nephropathy: toward a single entity, aristolochic acid nephropathy. *Kidney Int.* 2012; 81(6):513-515.
 31. Grollman AP, Shiburani S, Moriya M, Miller F, Wu L, MoU U, et al. Aristolochic acid and the etiology of endemic (Balkan) nephropathy. *Proc Nad Acad Sci USA.* 2007; 104:12129-34.
 32. Jelakovic B, Karanovic S, Vukovic-Lela I, Miller F, Edwards KL, Nikolic J, et al. Aristolactam-DNA adducts are a biomarker of environmental exposure to aristolochic acid. *Kidney Int.* 2012; 81:559-67.
 33. Krogh P, Gyrd-Hansen N, Hald B, Larsen S, Nielsen JP, Smith M, et al. Renal enzyme activities in experimental ochratoxin A-induced porcine nephropathy: diagnostic potential of phosphoenolpyruvate carboxykinase and gamma-glutamyl transpeptidase activity. *J Toxicol Environ Health.* 1988; 23:1-14.
 34. Krogh P, Hald B, Pleština R, Čeović S. Balkan (endemic) nephropathy and foodborn ochratoxin A: preliminary results of a survey of foodstuffs. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1977; 85:238-240.
 35. Maaroufi K, Achour A, Betbeder AM, Hammami M, Ellouz F, Creppy EE, et al. Foodstuffs and human blood contamination by the mycotoxin ochratoxin A: correlation with chronic interstitial nephropathy in Tunisia. *Arch Toxicol.* 1995; 69:552-558.
 36. Domijan AM, Peraica M, Fuchs R, Lučić A, Radić B, Balija M, et al. Ochratoxin A in blood of healthy population in Zagreb. *Arh Hig Rada Toksikol.* 1999; 50: 263-271.
 37. Kuiper-Goodman T. Risk assessment of ochratoxin A residues in food. *IARC Sci Publ.* 1991; 115:307-320
 38. Puntarić D, Bosnir J, Smit Z, Skes I, Baklajić Z. Ochratoxin A in corn and wheat: geographical association with endemic nephropathy. *Croat Med J.* 2001; 42(2):175-80.
 39. Pfohl-Leszkowicz A, Tozlovanu M, Manderville R, Peraica M, Castegnaro M, Stefanovic V. New molecular and field evidences for the implication of mycotoxins but not aristolochic acid in human nephropathy and urinary tract tumor. *Mol Nutr Food Res.* 2007; 51:1131-1146.
 40. Pfohl-Leszkowicz A, Grosse Y, Castegnaro M, Nicolov IG, Chernozemsky IN, Bartsch H, et al. Ochratoxin A-related DNA adducts in urinary tract tumours of Bulgarian subjects. *IARC Sci Publ.* 1993; 124:141-148.
 41. Yordanova P, Wilfried K, Tsoleva S, Dimitrov P. Ochratoxin A and β 2-microglobulin in BEN patients and controls. *Toxins (Basel)*. 2010;2(4):780-792.
 42. Feder GL, Radovanović Z, Finkelman RB. Relationship between weathered coal deposits and the etiology of Balkan endemic nephropathy. *Kidney Int.* 1991; 40 (Suppl. 34):S9-S11.
 43. Maharaj SV, Orem WH, Tatu CA, Lerch HE 3rd, Szilagyi DN. Organic compounds in water extracts of coal: links to Balkan endemic nephropathy. *Environ Geochem Health.* 2014; 36:1-17
 44. Orem WH, Feder GL, Finkelman RB. A possible link between Balkan endemic nephropathy and the leaching of toxic organic compounds from Pliocene lignite by groundwater: preliminary investigation. *Int J Coal Geol.* 1999; 40:237-252.
 45. Voice TC, McElmurry SP, Long DT, Dimitrov P, Ganey VS, Peptropoulos EA. Evaluation of the hypothesis that Balkan endemic nephropathy is caused by drinking water exposure to contaminants leaching from Pliocene coal deposits. *J Exp Sci Environ Epidemiol.* 2006; 16:515-524.
 46. Atanasova SY, von Ahsen N, Toncheva DI, Dimitrov TG, Oellerich M, Armstrong VW. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 among patients with Balkan endemic nephropathy (BEN). *Clin Biochem.* 2005; 38(3):223-228.
 47. Pećin I, Čvorišćec D, Miletić-Medved M, Dika Z, Cvitković A, Vitale K, et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and N-Acetyl- β -D-glucosaminidase excretion in endemic nephropathy. *Nephron Clin Pract.* 2011; 119(2):105-112.
 48. Reljić Z, Zlatović M, Savić-Radojević A, Pekmezović T, Djukanović L, Matic M, et al. Is increased susceptibility to Balkan endemic nephropathy in carriers of common GSTA1 (*A/*B) polymorphism linked with the catalytic role of GSTA1 in ochratoxin A biotransformation? Serbian case control study and in silico analysis. *Toxins (Basel)*. 2014; 6(8):2348-2362.
 49. Stiborová M, Arlt VM, Schmeiser HH. Balkan endemic nephropathy: an update on its aetiology. *Arch Toxicol.* 2016 Aug 19. PMID: 2738407; doi: 10.1007/s00204-016-1819-3
 50. Danilović V. Endemic nephropathy in Yugoslavia. In: Strahinjic S, Stefanovic V, editors. *Endemic (Balkan) Nephropathy, Proceedings 4th Symp., Niš, 1979*. Niš: Institute of Nephrology and Haemodialysis; 1981. p. 1-5.
 51. Puchlev A, Dimitrov TS, Dinev I, Doichinov D. Clinical investigations in patients with endemic nephropathy. In: Strahinjic S, Stefanovic V, editors. *Endemic (Balkan) Nephropathy, Proc. 4th Symp., Nis 1979*. Nis: Institute of Nephrology and Haemodialysis; 1981. p. 7-10.
 52. Stefanović V. Diagnostic criteria for Balkan endemic

- nephropathy. In: Strahinjić S, Stefanović V, editors. Proceedings of the 5th Symposium on Endemic (Balkan) Nephropathy, Niš 1983. Niš: University Press; 1983: 351-363.
53. Čvorišćec D, Radonić M, Čeović S, Aleraj B. Characteristics of proteinuria in endemic nephropathy. J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:569-571.
54. Jelaković B, Nikolić J, Radovanović Z, Nortier J, Cosyns J P, Grollman A P, et al. Consensus statement on screening, diagnosis, classification and treatment of endemic (Balkan) nephropathy. Nephrol Dial Transplant. 2013; 29(11):2020-2027.
55. Hall PW, Vasiljevic M. Beta 2-microglobulin excretion as an index of renal tubular disorders with special reference to endemic Balkan nephropathy. J Lab Clin Med (St. Luis). 1973; 81:897-904.
56. Djukanović Lj. Laboratory studies. In: Radovanović Z, Sindić M, Polenaković M, Djukanović Lj, Petronić V, editors. Endemic Nephropathy. Belgrade: Office for Textbooks and Teaching Aids. 2000. p. 317-349.
57. Djukanović L, Marić I, Marinković J, Ignjatović S, Bukvić D. Evaluation of criteria for the diagnosis of Balkan endemic nephropathy. Ren Fail. 2007; 29(5):607-614.
58. Djukanović L, Marinković J, Marić I, Ležaić V, Dajak M, Petronić D, et al. Contribution to the definition of diagnostic criteria for Balkan endemic nephropathy. Nephrol Dial Transplant. 2008; 23(12):3932-3938.
59. Stefanović V, Jelaković B, Čukuranović R, Bukvić D, Nikolic J, Lukic L, et al. Diagnostic criteria for Balkan endemic nephropathy: proposal by an international panel. Ren Fail. 2007; 29:867-880
60. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. Chapter 1: Definition and classification of CKD. Kidney Int Suppl. 2013; 3:19-62.