

Andreja Belščak¹, Vid Leban², Miha Mrak³

Aristolohična kislina: od zdravila do strupa

Aristolochic Acid: From a Cure to a Poison

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: aristolohična kislina, balkanska endemska nefropatija, nefropatija, povzročena z aristolohično kislino, kronična ledvična odpoved, urotelijski karcinom

Aristolohično kislino vsebujejo pretežno rastline iz rodu *Aristolochia* in je v nekaterih delih sveta še danes prisotna v shujševalnih sredstvih in rastlinskih pripravkih za zdravljenje različnih bolezni. Predvsem v preteklosti so ji bili prebivalci podeželskih predelov Balkana izpostavljeni tudi preko uživanja izdelkov iz moke, izdelane iz kontaminiranega žita. Aristolohična kislina in njeni metaboliti so citotoksični in rakotvorni, tveganje za pojav bolezni pa se veča s trajanjem izpostavljenosti in celokupno količino zaužite snovi. Povzroča maligne novotvorbe sečil, ki se v večini primerov razvijejo v zgornjem delu urotakta, in nefropatijo, ki lahko v končni fazi privede do kronične ledvične odpovedi. Pod pojmom »nefropatija, povzročena z aristolohično kislino« združujemo nekoč ločeni entiteti – balkansko endemsko nefropatijo in nefropatijo, povzročeno s kitajskimi zelišči. V Sloveniji pojava nefropatije, povzročene z aristolohično kislino, ki bi bil opisan v literaturi, nismo zasledili, a bi bil kot sporadična najdba možen zaradi precejšnje bližine področij z balkansko endemsko nefropatijo in rastočega zanimanja za naravna zdravila, ki pogosto vsebujejo nepreverjene učinkovine.

ABSTRACT

KEY WORDS: aristolochic acid, Balkan endemic nephropathy, aristolochic acid nephropathy, chronic kidney failure, urothelial carcinoma

Aristolochic acid is contained mainly in the plants of the *Aristolochia* genus and is still used in some parts of the world in slimming products and herbal preparations for treating different diseases. Particularly in the past, the people from the rural parts of the Balkans were exposed to it through the consumption of products made of contaminated flour. Aristolochic acid and its metabolites are known to be cytotoxic and cancerogenous and the chance of developing a disease increases with the length of exposure and the amount consumed. It causes the development of the malignancies of the urinary system, which mostly arise in the upper part of the urinary tract, and the development of nephropathy which may result in a chronic kidney failure. The two entities, previously separately named as »Balkan endemic nephropathy« and »Chinese herb nephropathy« are now united under

¹ Andreja Belščak, dr. med., Internistična prva pomoč, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana; andreja988@gmail.com

² Vid Leban, dr. med., Internistična prva pomoč, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana; vidleban@gmail.com

³ Miha Mrak, dr. med., Urgentni kirurški blok, Kirurška klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana; miha.mrak2@gmail.com

the term »aristolochic acid nephropathy«. To our knowledge, there are no case reports of aristolochic acid nephropathy in the Slovene medical literature; however, sporadic findings would be possible due to the close proximity of the areas with Balkan endemic nephropathy and a growing interest in the natural products, which often contain unverified substances.

UVOD

Aristolohično kislino vsebujejo rastline iz rodov *Aristolochia*, *Bragantia* in *Asarum*, ki so v uporabi v tradicionalni azijski medicini, kot naravna zdravila pa tudi v razvitem svetu (1). Zeliščni pripravek iz teh rastlin vsebuje skupino sorodnih nitrofenantrenskih karboksilnih kislin. Glavni komponenti sta aristolohična kislina I in aristolohična kislina II z nefrotoksičnimi in rakotvornimi lastnostmi, ki jih spremljajo številni aristolaktamski in 4,5-dioksoporfinski analogi (2). Znanih je najmanj 192 analogov, ki so prisotni v številnih rastlinskih vrstah, med katerimi pa jih ima 77 dokazano toksičnost *in vitro*. Njihova vloga v patogenezi pri človeku še ni povsem raziskana (3). Aristolohična kislina povzroča nastanek kroničnega tubulointersticijskega nefritisa in urotelijskega karcinoma (UK), njena vloga v nastanku nekaterih drugih obolenj pa še ni zadovoljivo pojasnjena.

EPIDEMIOLOŠKA DEJSTVA O ARISTOLOHIČNI KISLINI

Ljudje so škodljivim učinkom aristolohične kisline izpostavljeni na dva načina: preko uživanja izdelkov iz kontaminirane moke in preko uporabe zdravilnih pripravkov rastlinskega izvora. Vrste iz rodu *Aristolochia* na žitnih poljih predstavljajo plevel in v nastanek bolezni vstopajo kot neželena sestavina moke, pridobljene iz kontaminiranega žita, ki pred predelavo ni bilo ustrezno prečiščeno (slika 1). Tubulointersticijske okvare ledvic, ki se razvijejo zaradi tovrstne kronične izpostavljenosti, se pojavljajo endemično v podeželskih predelih Balkanskega polotoka v porečju Donave s pritoki Save, Morave

in Drine, kar obsega območja Bolgarije, Romunije, Srbije, Bosne in Hercegovine, Kosova ter Hrvaške (slika 2) (4). Prvi primeri nefritisa so bili na več manjših področjih prepoznani v 20. letih prejšnjega stoletja, bolezen pa leta 1956 poimenovana po naselju Vratsa v Bolgariji kot »Vratsa nefritis« (5). Kasneje so ugotovili, da se ista bolezen pojavlja tudi drugod, zato so jo opredelili kot balkansko endemsko nefropatijo (BEN) ali podonavsko družinsko endemsko nefropatijo (angl. *Danubian endemic familial nephropathy*, DEFN) (4). Vzrok bolezni je dolgo ostal neznan. Glede možne etiologije



Slika 1. Navadni podraščec (*Aristolochia clematitis*). S semeni te rastline je kontaminirano žito na endemičnih območjih balkanske endemske nefropatije.

BEN je bilo oblikovanih več hipotez, a je z njenim nastankom danes dokazano povezana le kronična izpostavljenost aristolohični kislini (4). To hipotezo je že leta 1970 postavil Ivič, ki je ugotovil, da je navadni podražec (*Aristolochia clematitis*) v endemičnih regijah pogost na pšeničnih poljih, njegova semena pa se pri žetju pomešajo s pšeničnimi. Na ta način jo prebivalci kasneje zaužijejo v domačem kruhu (6). Ker je kruh pomemben del njihove prehrane, kontaminacija moke že z nekaj semeni *A. clematitis* dolgoročno predstavlja znatno izpostavljenost aristolohični kislini. Ivič je opravil tudi študijo na zajcih, ki jih je hranil s kontaminirano moko. Zajci so razvili nefropatijo, ki je bila po histoloških značilnostih zelo podobna BEN (7). Izboljšave v poljedelstvu so na endemičnem območju Hrvaške občutno zmanjšale izpostavljenost aristolohični kislini v prehrani, zato lahko pričakujemo postopen upad BEN in UK (8). Danes prevalenca v endemskih regijah Balkana znaša 0,5–4,4% in s časom upada, z izjemo območja ob reki Kolubari v Srbiji, kjer je med letoma 1971 in 2002 narasla za 2,5% (9–11).

V predelih Kitajske, Japonske, Tajvana, Irana, Bangladeša, Indije in Maroka zelišča, ki vsebujejo aristolohično kislino, že stoletja uporabljajo v tradicionalni ljudski medicini (1, 14–20). Opisana je uporaba za zdravljenje okužb (zgornjih dihal in sečil, bronhitisa, pljučnice, vaginitisa, ustnih razjed, artritisa, gnojnih ran, okužb s paraziti in hepatitisa), vnetij (protina, revmatizma), bolečine (artralgije, nevralgije, glavobolov), ekcemov, hipertenzije, možgansko-žilnih dogodkov, srčnega popuščanja, edemov, ledvičnih kamnov, kačjih ugrizov, napenjanja, dismenoreje ter za pospešitev poroda in sprožitve splava (1, 2, 21–23). V tradicionalni maroški medicini še vedno uporabljajo vrste rodu *Aristolochia* (pod ljudskim imenom »bereztem«) pri zdravljenju raka, sladkorne bolezni in motenj v delovanju prebavil (20). V Iranu iste rastline imenujejo »zaravand« ali »chopoghak« in jih uporabljajo pri zdravljenju glavobola, bolečin v hrbtu in anksioznosti (18). V Bangladešu jih uporabljajo za zdravljenje kačjih ugrizov in spolnih motenj (19). Kitajska zelišča, ki vsebujejo aristolohično kislino, sestavljajo deli rastlin iz rodu *Aristolochia* (Guang



Slika 2. Geografska razširjenost balkanske endemske nefropatije (12, 13).

Fang Ji (Fangchi), Guan Mu Tong, Qing Mu Xiang, Ma Dou Ling in Tian Xian Teng) ter korenike rastlin iz rodu *Asarum* (Xixin) (1, 24). V Tajvanu je predpisovanje takšnih zdravil še posebej razširjeno, hkrati pa tam beležimo tudi najvišjo incidenco kronične ledvične bolezni (22, 25). Aristolohični kislini so zaradi vse večjega zanimanja za naravna zdravila, poleg uporabnikov in izdelovalcev tradicionalnih zdravil v omejenih azijskih državah, vse pogosteje izpostavljeni tudi prebivalci razvitega sveta, ki te pripravke zaradi njihovega rastlinskega izvora prepogosto sprejemajo kot neškodljive (1). Prvi primer v razvitem svetu je bil opisan leta 1993, ko so poročali o povezavi med uživanjem tablet oz. mešanice čajev za hujšanje iz kitajskih zelišč »Guang Fang Ji« in ledvično okvaro pri več kot sto mladih Belgijkah (1, 26, 27). Epidemija v Belgiji je bila posledica zaužitja zelišč vrste *Aristolochia fangchi* z napačnim prodajnim imenom *Stephania tetrandra* (15). Sledila so poročila iz številnih drugih držav (1, 28–30). To vrsto ledvične okvare so opredelili kot nefropatijo, povzročeno s kitajskimi zelišči (angl. *Chinese herb nephropathy*, CHN). Danes vemo, da sta BEN in CHN ista entiteta, in jo imenujemo nefropatija, povzročena z aristolohično kislino (angl. *aristolochic acid nephropathy*, AAN) (31).

PATOGENETSKI MEHANIZMI DELOVANJA

Aristolohična kislina se v telesu presnavlja po dveh poteh:

- Detoksifikacijska pot: demetilacija in tvorba estrov z glukuronsko in očetno kislino. Tako nastali glukuronski in acetatni estri se izločijo z žolčem.
- Bioaktivacijska pot: redukcija nitro skupine. Katalizirajo jo mikrosomalni in citosolni encimi. V jetrih sta to predvsem citokroma CYP1A2 in CYP1A1, v ledvičnem parenhimu NADPH:CYP reduktaza, v urolitiju pa ciklooksigenaza 1 (23).

Aristolohična kislina in njeni metaboliti imajo citotoksične in rakotvorne učinke. Po dosedanjih raziskavah lahko večino učinkov pripišemo aristolohični kislini I (32). Tveganje za pojav bolezni narašča s trajanjem izpostavljenosti in celokupno količino zaužite snovi (33, 34).

Nefrotoksični učinek

Mehanizem, ki privede do ledvične okvare, še ni povsem pojasnjen. Glede na opravljene raziskave lahko predpostavimo, da je okvara ledvic posledica neposrednega toksičnega učinka na proksimalne tubule in posrednega ishemičnega učinka zaradi okvare peritubulnih kapilar (slika 3a). V celicah proksimalnega tubula se preko aktivacije z zunajceličnim signalom regulirane kinaze (angl. *extracellular signal regulated kinase*, ERK) zveča tvorba cisteinskih levkotrienov (levkotrieni C4, D4 in E4). Povečana aktivnost ERK privede tudi do depolarizacije mitohondrijske membrane, kar vodi v sprostitvev citokroma C. Oba procesa aktivirata kaspazno pot, kar sproži apoptozo celice (slika 3b) (35). K sprožitvi apoptoze bi lahko pripomogla tudi zvečana tvorba reaktivnih kisikovih spojin (36).

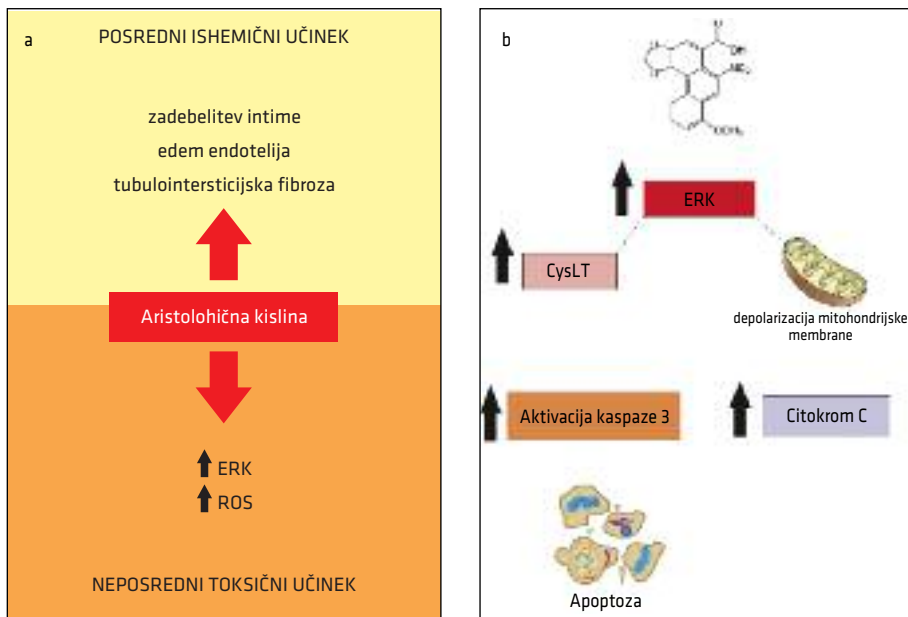
Ishemična poškodba je posledica okvare endotelijskih celic in spremenjenega razmerja med vazoaktivnimi dejavniki. Sprva se pojavijo edem endotelijskih celic, fibrozna zadebelitev intimne, zvečana sinteza endotelina in zmanjšana sinteza dušikovega oksida. Z napredovanjem bolezni, širitvijo intersticijske fibroze in propadanjem peritubulnih kapilar se še dodatno poveča difuzijska pot, ishemijsko pa dodatno okrepi renalna anemija (37).

Rakotvorni učinek

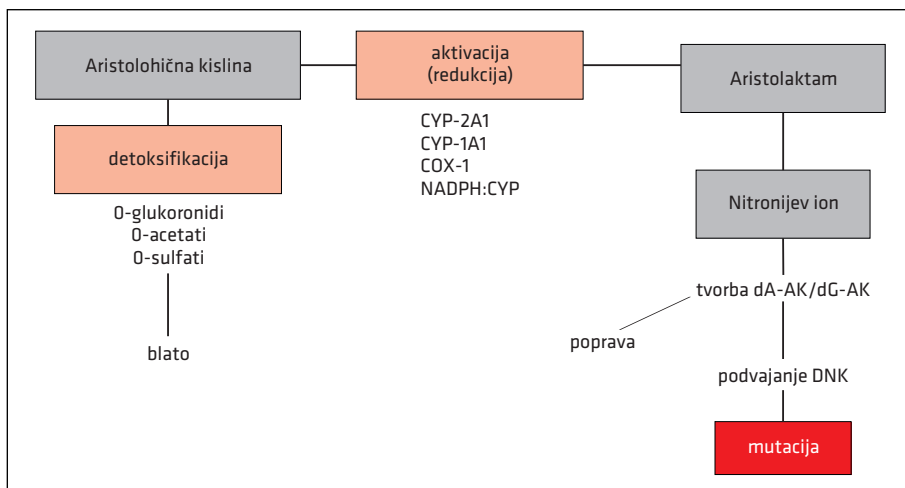
Aristolohična kislina sodi v zgornja 2% najbolj potentnih rakotvornih snovi. Mednarodna agencija za raziskovanje raka jo pri svoji razvrstitvi uvršča v 1. skupino, kar pomeni, da je na voljo dovolj epidemioloških in toksikoloških dokazov o povzročanju

raka pri ljudeh (38). Tveganje za pojav raka pri posamezniku je odvisno od razmerja med aktivnostjo detoksifikacijskih in bioa-

ktivacijskih encimskih poti (23). Po aktivaciji z redukcijo nitro skupine se tvori reaktivni aristolaktam-nitrenjev ion, ki se kovalentno



Slika 3. a Nefrotoksični učinek je najverjetneje posledica neposrednega toksičnega učinka na celice proksimalnega tubula in ishemije zaradi prizadetih interlobularnih arteriol in peritubulnih kapilar. **b** Neposredni toksični učinki povzročijo znotrajcelično aktivacijo kaspaznega sistema, ki je končna skupna pot za sprožitev apoptoze. ERK – z zunajceličnim signalom regulirana kinaza (angl. *extracellular signal regulated kinase*), ROS – reaktivne kisikove spojine (angl. *reactive oxygen species*), CysLT – cisteinski levkotrieni.



Slika 4. Procesi, ki sprožijo maligno preobrazbo celice. dA-AK – addukt deoksiadenozina in aristolohične kisline, dG-AK – addukt deoksivanozina in aristolohične kisline.

veže na izvenciklično aminske skupino purinskih nukleotidov v verigi DNA. Nastajajo addukti z deoksiadenozinom in deoksi-gvanozinom, ki se popravljajo z izrezovalnimi mehanizmi. Posamezne addukte lahko najdemo v tkivu ali urinu še več let po končani izpostavljenosti. V primeru adduktov, nastalih iz deoksiadenozina in metabolita aristolohične kisline I, so popravljalni mehanizmi manj učinkoviti (34). Če poškodba vztraja vse do delitve celice, se med procesom podvajanja DNA adenozin pogosto zamenja s timidinom (23). Tako nastala mutacija DNA je stalna in lahko privede do aktivacije onkogenega gena (npr. *Ras*) ali inaktivacije tumor supresorskega gena (npr. *p53*), kar sproži maligno spremembo celice (slika 4) (2, 34). K razvoju raka pomembno doprinese tudi sama citotoksičnost, saj prav ta sproži kompenzatorno delitev celic, ki omogoči nastanek in pridobivanje novih mutacij (34).

KLINIČNA SLIKA

Nefropatija, povzročena z aristolohično kislino

BEN in CHN se razlikujeta v hitrosti razvoja klinične slike. Za BEN je značilna dolga latentna doba – da se pri posamezniku razvije ta bolezen, mora živeti v endemskem področju od 15 do 20 let. Prebivalci, ki se odselijo iz območja pred tem časom, so torej obvarovani razvoja bolezni. Iz tega razloga se BEN najpogosteje pojavlja med 30. in 50. letom starosti (39). Pri otrocih še ni bila opisana, so pa nekatere študije pokazale, da so otroci iz družin z BEN v urinu izločali pomembno več β -2-mikroglobulinov kot otroci, ki so živeli izven endemskih vasi ali pa so izhajali iz družin, kjer BEN ni bila prisotna (40, 41). CHN za razliko od BEN hitreje napreduje v končno ledvično odpoved, in sicer v šestih mesecih do dveh letih, kar gre pripisati uživanju večjih doz aristolohične kisline v shuševalnih sredstvih oziroma zeliščnih pripravkih. Prevalenca je višja pri ženskah, kar je najverjetneje posledica večjega posluževanja zdravljenj in

postopkov hujšanja v primerjavi z moškimi (31). Kljub tem razlikam pa BEN in CHN kažeta zelo podobno klinično in patohistološko sliko. Za obe obliki nefropatije je značilno skrčenje ledvic, huda anemija in napredovanje v kronično ledvično odpoved (42). Anemija je hujša, kot bi jo pričakovali glede na prizadetost ledvic. Za to je lahko (vsaj teoretično) aristolohična kislina tudi neposredno odgovorna, saj sproži apoptozo eritrocitov, najverjetneje preko stimulacije tvorbe ceramidov in vdora kalcijevih ionov v celico (43).

Diagnostičnega testa, ki bi zaznaval povečano tveganje za AAN ali njen zgodnji začetek, za zdaj ne poznamo. Možen biomarker bolezni bi lahko bili addukti aristolohične kisline in DNA v odluščenih urotelijskih celicah v urinu, a dovolj občutljive metode za njihovo zaznavanje še nimamo (40). Klinična diagnoza bolezni temelji na izključevanju drugih ledvičnih bolezni, prepoznavanju epidemioloških dejavnikov in kliničnih kriterijih, kot so povečano izločanje proteinov z nizko molekularno maso (še posebej β -2-mikroglobulina) v urinu, zmanjšan očistek kreatinina in simetrično zmanjšanje ledvic. β -2-mikroglobulinurija je sicer indikator disfunkcije proksimalnih ledvičnih tubulov (41). BEN in CHN se torej klinično razlikujeta le v hitrosti napredovanja v končno ledvično odpoved, ki je pri BEN počasnejša, in v prevalenci, ki je pri CHN višja pri ženskah, medtem ko je za BEN značilno družinsko pojavljanje (31).

Za preventivo pred pojavom AAN velja izogibanje etiološkimi dejavniki. Zdravljenje je podobno zdravljenju ostalih kroničnih intersticijskih nefropatij. Za bolnike je poleg tega pomembno, da se držijo načel zdrave prehrane, prenehajo z morebitnim kajenjem in skrbijo za redno telesno aktivnost. Hemodializa, peritonealna dializa in presaditev ledvic so se izkazale kot uspešne, bolezen se po transplantaciji ne ponovi (40). Znano je tudi, da potrebujejo bolniki z AAN, ki so na hemodializi, višje doze rekombi-

nantnega humanega eritropoetina za vzdrževanje tarčne vrednosti hemoglobina kot bolniki z drugimi ledvičnimi boleznimi (44).

Fanconijev sindrom

AAN se lahko izrazi tudi s klinično sliko Fanconijevega sindroma (45). Taki primeri so bili opisani na Japonskem in drugih, pretežno azijskih državah, kjer je, v primerjavi s CHN v Belgiji, zbolelo veliko moških, ki so večinoma razvili Fanconijev sindrom, nikoli pa karcinoma urotrakta (16, 45, 46). Opisan je tudi primer Fanconijevega sindroma v sklopu CHN pri otroku (46). Napredovanje v končno ledvično odpoved je pri Fanconijevem sindromu počasnejše kot pri ostalih oblikah CHN (45). Pri Fanconijevem sindromu gre za prizadetost reabsorpcije glukoze, aminokislin, fosfatov in bikarbonata v proksimalnem tubulu in sodi v sklop kroničnih tubulointersticijskih boleznih ledvic. Lahko se izrazi tudi s hipokalemično paralizo ali zmanjšano proksimalno mišično močjo (47, 48). Vzroki, zakaj se CHN lahko izrazi kot subakutna ledvična odpoved ali kot Fanconijev sindrom, niso pojasnjeni. Menijo, da gre lahko za vpliv različnih komponent aristolohične kisline v različnih zeliščnih mešanica, za vpliv še neopredeljene toksične komponente v zeliščni mešanici, za vpliv prejete doze na izraženost klinične slike ali različno občutljivost na aristolohično kislino med rasami (15, 16).

Urotelijski karcinom

Aristolohična kislina povzroča tudi nastanek malignih novotvorb sečil, ki se pojavljajo pri bolnikih z razvito AAN. Primarne novotvorbe zgornjega dela urotrakta (sečevodov in ledvičnega meha) so redke (približno 5 % vseh UK), več kot 90 % jih je urotelijskega izvora (49). Pri novotvorbah, povezanih z aristolohično kislino, je stanje obratno; UK se v večini primerov razvije v zgornjem delu urotrakta, redkeje pa v spodnjem delu sečevodov ali v mehurju

(50–53). Visoko tveganje za nastanek predstavlja kumulativna doza zelišč iz rodu *Aristolochia*, ki presega 200 g (51). UK je pogostejši med bolniki s CHN v končnem stadiju bolezni, a se lahko pojavlja tudi pri bolnikih brez pomembne ledvične okvare, kar kaže na disociacijo med nefrotoksičnostjo in rakotvornostjo aristolohične kisline (13, 51). Najvišja incidenca UK zgornjega dela urotrakta v svetovnem merilu je na Tajvanu, visoka pa je tudi na endemičnih območjih BEN, kjer je značilno (do 100-krat) višja kot na sosednjih območjih (54–56). Zaradi opisanih primerov ponekod bolnike z UK, ki imajo AAN v napredovalem stadiju, redno cistoskopsko spremljajo, svetujejo pa tudi preventivno odstranitev ledvic in sečevodov (12, 51, 56).

Redke manifestacije kronične zastropitve z aristolohično kislino

Opisani sta tudi dve redkejši obolenji, za kateri pa vzročna povezava z aristolohično kislino še ni zadostno pojasnjena in dokazana.

Bennett in Segal sta pred dvema letoma poročala o bolnici z AAN, ki je v osmih mesecih hitro napredovala do končne ledvične odpovedi. Zdravljena je bila s presaditvijo ledvice in imunosupresijo s takrolimusom in prednizonom. Sedemnajst let po presaditvi so v vranici naključno odkrili difuzni velikocelični B-limfom. Predpostavljena je bila vzročna povezava med limfomom in aristolohično kislino, ki pa ni bila nikoli dokazana (57).

V literaturi je opisan tudi primer bolnika z reverzibilnim akutnim hepatitisom, ki je užival čaj iz kitajskih zelišč. V čajni mešanici so določili rastlinske ostanke, ki pripadajo vrsti *Aristolochia debilis* in nekaterim drugim vrstam tega rodu. Akutni hepatitis je bil najverjetneje posledica ene ali več strupenih aktivnih snovi v čaju iz kitajskih zelišč (58).

ZAKLJUČEK

V Sloveniji pojava AAN, ki bi bil opisan v literaturi, nismo zasledili, vendar je ta kot sporadična najdba možen zaradi razmeroma precejšnje bližine področij z endemično obliko AAN in rastočega zanimanja za naravna zdravila, ki so lahko ob pomanjkljivem nadzoru in nepoznavanju potencialen vir aristolohične kisline. Zelišča, ki vsebujejo aristolohično kislino, so prepovedana v številnih državah, vendar ob razmeroma

pogostih primerih CHN zaradi zamenjav z različnimi drugimi (deklarirano varnimi) kitajskimi zelišči (npr. *Stephania tetrandra*, *Rauvolfia serpentina* in vrstami rodov *Akebia*, *Asarum*, *Clematis* in *Cocculus*) zdravstvene varnosti uporabnikov teh zelišč ne moremo zagotoviti (11, 18, 20, 21). *Aristolochia* se uporablja tudi v homeopatskem zdravljenju, a zaradi načina priprave tovrstnih zdravil kronična zastrupitev z aristolohično kislino ni zelo verjetna (22).

LITERATURA

1. Yang HY, Chen PC, Wang JD. Chinese herbs containing aristolochic acid associated with renal failure and urothelial carcinoma: a review from epidemiologic observations to causal inference. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 569325.
2. Hollstein M, Moriya M, Grollman AP, et al. Analysis of TP53 mutation spectra reveals the fingerprint of the potent environmental carcinogen, aristolochic acid. *Mutat Res.* 2013; 753 (1): 41-9.
3. Michl J, Ingrouille MJ, Simmonds MS, et al. Naturally occurring aristolochic acid analogues and their toxicities. *Nat Prod Rep.* 2014; 31 (5): 676-93.
4. Pavlović NM. Endemic nephropathy and upper urothelial carcinoma – new insights in molecular biology. *Prilozi.* 2014; 35 (1): 71-9.
5. Tanchev Y, Evstatiev Z, Dorossiev D, et al. Studies on the nephritides in the District of Vratza. *Savremena Medicina.* 1956; 7: 14-29.
6. Ivić M. Etiology of endemic nephropathy. *Lijec Vjesn.* 1969; 91: 1273-81.
7. Bamias G, Boletis J. Balkan nephropathy: evolution of our knowledge. *Am J Kidney Dis.* 2008; 52 (3): 606-16.
8. Jelaković B, Vuković Lela I, Karanović S, et al. Chronic dietary exposure to aristolochic acid and kidney function in native farmers from a Croatian endemic area and Bosnian immigrants. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015; 10 (2): 215-23.
9. Cukuranovic R, Petrovic B, Cukuranovic Z, et al. Balkan endemic nephropathy: a decreasing incidence of the disease. *Pathol Biol (Paris).* 2000; 48 (6): 558-61.
10. Bukvić D, Marić I, Arsenović A, et al. Prevalence of Balkan endemic nephropathy has not changed since 1971 in the Kolubara region in Serbia. *Kidney Blood Press Res.* 2007; 30 (2): 117-23.
11. Bukvić D, Janković S, Arsenović A, et al. Balkan endemic nephropathy is still present in the Kolubara region, Serbia. *Ren Fail.* 2005; 27 (5): 565-9.
12. Stefanovic V, Radovanovic Z. Balkan endemic nephropathy and associated urothelial cancer. *Nat Clin Pract Urol.* 2008; 5: 105-12.
13. Voice TC, McElmurry SP, Long DT, et al. Evaluation of the hypothesis that Balkan endemic nephropathy is caused by drinking water exposure to contaminants leaching from Pliocene coal deposits. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2006; 16: 515-24.
14. Shaohua Z, Ananda S, Ruxia Y, et al. Fatal renal failure due to the Chinese herb »GuanMu Tong« (Aristolochia manshuriensis): autopsy findings and review of literature. *Forensic Sci Int.* 2010; 199 (1-3): 5-7.
15. Tanaka A, Nishida R, Maeda K, et al. Chinese herb nephropathy in Japan presents adult-onset Fanconi syndrome: could different components of aristolochic acids cause a different type of Chinese herb nephropathy? *Clin Nephrol.* 2000; 53 (4): 301-6.
16. Tanaka A, Nishida R, Yoshida T, et al. Outbreak of Chinese herb nephropathy in Japan: are there any differences from Belgium? *Intern Med.* 2001; 40 (4): 296-300.

17. Wu FL, Chen YM, Lai TS, et al. Does Chinese herb nephropathy account for the high incidence of end-stage renal disease in Taiwan? *Nephron Clin Pract.* 2012; 120 (4): 215–22.
18. Ardalan MR, Khodaie L, Nasri H, et al. Herbs and hazards: risk of aristolochic acid nephropathy in Iran. *Iran J Kidney Dis.* 2015; 9 (1): 14–7.
19. Michl J, Jennings HM, Kite GC, et al. Is aristolochic acid nephropathy a widespread problem in developing countries? A case study of *Aristolochia indica* L. in Bangladesh using an ethnobotanical-phytochemical approach. *J Ethnopharmacol.* 2013; 149 (1): 235–44.
20. Yamani A, Bunel V, Antoine MH, et al. Substitution between *Aristolochia* and *Bryonia* genus in North-Eastern Morocco: toxicological implications. *J Ethnopharmacol.* 2015; 166: 250–60.
21. Gökmen MR, Lord GM. Aristolochic acid nephropathy. A disease that could be prevented through more careful regulation of herbal products. *BMJ.* 2012; 344: 4000.
22. Hsieh CF, Huang SL, Chen CL, et al. Increased risk of chronic kidney disease among users of non-prescribed Chinese herbal medicine in Taiwan. *Prev Med.* 2012; 55: 155–9.
23. Stiborová M, Frei E, Arlt VM, et al. Metabolic activation of carcinogenic aristolochic acid, a risk factor for Balkan endemic nephropathy. *Mutat Res.* 2008; 658 (1–2): 55–67.
24. Yang HY, Lin JL, Chen KH, et al. Aristolochic acid-related nephropathy associated with the popular Chinese herb *Xi Xin*. *J Nephrol.* 2006; 19 (1): 111–4.
25. Ivković V, Karanović S, Fištrek Prlić M, et al. Is herbal tea consumption a factor in endemic nephropathy? *Eur J Epidemiol.* 2014; 29: 221–4.
26. Luciano RL, Perazella MA. Aristolochic acid nephropathy: epidemiology, clinical presentation, and treatment. *Drug Saf.* 2015; 38 (1): 55–64.
27. Vanherweghem LJ. Misuse of herbal remedies: the case of an outbreak of terminal renal failure in Belgium (Chinese herbs nephropathy). *J Altern Complement Med.* 1998; 4 (1): 9–13.
28. Lord GM, Tagore R, Cook T, et al. Nephropathy caused by Chinese herbs in the UK. *Lancet.* 1999; 354: 481–2.
29. Meyer MM, Chen TP, Bennett WM. Chinese herb nephropathy. *Proc (Bayl Univ Med Cent).* 2000; 13 (4): 334–7.
30. Stengel B, Jones E. End-stage renal insufficiency associated with Chinese herbal consumption in France. *Nephrologie.* 1998; 19 (1): 15–20.
31. De Broe ME. Chinese herbs nephropathy and Balkan endemic nephropathy: toward a single entity, aristolochic acid nephropathy. *Kidney Int.* 2012; 81 (6): 513–5.
32. Shibutani S, Dong H, Suzuki N, et al. Selective toxicity of aristolochic acids I and II. *Drug Metab Dispos.* 2007; 35 (7): 1217–22.
33. Yang HY, Zheng XH, Du Y, et al. Kinetics of aristolochic acid I after oral administration of *Radix Aristolochiae* or *Guanxinsuhe* preparation in canines. *J Ethnopharmacol.* 2011; 135 (2): 569–74.
34. Mei N, Arlt VM, Phillips DH, et al. DNA adduct formation and mutation induction by aristolochic acid in rat kidney and liver. *Mutat Res.* 2006; 602 (1–2): 83–91.
35. Yang H, Dou Y, Zheng X, et al. Cysteinyl leukotrienes synthesis is involved in aristolochic acid I-induced apoptosis in renal proximal tubular epithelial cells. *Toxicology.* 2011; 287 (1–3): 38–45.
36. Zhu S, Wang Y, Jin J, et al. Endoplasmic reticulum stress mediates aristolochic acid I-induced apoptosis in human renal proximal tubular epithelial cells. *Toxicol In Vitro.* 2012; 26 (5): 663–71.
37. Wen YJ, Qu L, Li XM. Ischemic injury underlies the pathogenesis of aristolochic acid-induced acute kidney injury. *Transl Res.* 2008; 152 (1): 38–46.
38. Lord GM, Cook T, Arlt VM, et al. Urothelial malignant disease and Chinese herbal nephropathy. *Lancet.* 2001; 358: 1515–6.
39. Bamias C, Boletis J. Balkan nephropathy: evolution of our knowledge. *Am J Kidney Dis.* 2008; 52 (3): 606–16.
40. Stefanovic V, Toncheva D, Polenakovic M. Balkan nephropathy. *Clin Nephrol.* 2015; 83 (7 Suppl 1): 64–9.
41. Hanjansit K, Dimitrov PS, Zhang H, et al. Incidence and predictive factors of Balkan endemic nephropathy: a longitudinal study. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2014; 25 (2): 343–52.
42. Pitt JI. Chinese herbal medicines, aristolochic acid and Balkan endemic nephropathy. *Occup Environ Med.* 2011; 68: 237.
43. Malik A, Bissinger R, Calabrò S, et al. Aristolochic acid induced suicidal erythrocyte death. *Kidney Blood Press Res.* 2014; 39 (5): 408–19.
44. Ležaić V, Petković N, Marić I, et al. The pharmacokinetics of recombinant human erythropoietin in Balkan endemic nephropathy patients. *Nefrologia.* 2013; 33 (4): 478–85.

45. Lee S, Lee T, Lee B, et al. Fanconi's syndrome and subsequent progressive renal failure caused by a Chinese herb containing aristolochic acid. *Nephrology (Carlton)*. 2004; 9 (3): 126–9.
46. Hong YT, Fu LS, Chung LH, et al. Fanconi's syndrome, interstitial fibrosis and renal failure by aristolochic acid in Chinese herbs. *Pediatr Nephrol*. 2006; 21 (4): 577–9.
47. Tsai CS, Chen YC, Chen HH, et al. An unusual cause of hypokalemic paralysis: aristolochic acid nephropathy with Fanconi syndrome. *Am J Med Sci*. 2005; 330 (3): 153–5.
48. Chan JS, Yang AH, Kao KP, et al. Acquired fanconi syndrome induced by mixed Chinese herbs presenting as proximal muscle weakness. *J Chin Med Assoc*. 2004; 67 (4): 193–6.
49. Colin P, Koenig P, Ouzzane A, et al. Environmental factors involved in carcinogenesis of urothelial cell carcinomas of the upper urinary tract. *BJU Int*. 2009; 104 (10): 1436–40.
50. Cosyns JP, Jadoul M, Squifflet JP, et al. Urothelial lesions in Chinese-herb nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 1999; 33 (6): 1011–7.
51. Nortier JL, Martinez MC, Schmeiser HH, et al. Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*). *N Engl J Med*. 2000; 342 (23): 1686–92.
52. Yang CS, Lin CH, Chang SH, et al. Rapidly progressive fibrosing interstitial nephritis associated with Chinese herbal drugs. *Am J Kidney Dis*. 2000; 35 (2): 313–8.
53. Yang HY, Wang JD, Lo TC, et al. Increased risks of upper tract urothelial carcinoma in male and female chinese herbalists. *J Formos Med Assoc*. 2011; 110 (3): 161–8.
54. Chen CH, Dickman KG, Moriya M, et al. Aristolochic acid-associated urothelial cancer in Taiwan. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109 (21): 8241–6.
55. Schmeiser HH, Kucab JE, Arlt VM, et al. Evidence of exposure to aristolochic acid in patients with urothelial cancer from a Balkan endemic nephropathy region of Romania. *Environ Mol Mutagen*. 2012; 53 (8): 636–41.
56. Stefanovic V, Polenakovic M, Toncheva D. Urothelial carcinoma associated with Balkan endemic nephropathy. A worldwide disease. *Pathol Biol (Paris)*. 2011; 59 (5): 286–91.
57. Bennett WM, Segal G. Splenic large B-cell lymphoma 17 years after exposure to aristolochic acid. *Transplantation*. 2013; 96 (7): 56–7.
58. Levi M, Guchelaar HJ, Woerdenbag HJ, et al. Acute hepatitis in a patient using a Chinese herbal tea—a case report. *Pharm World Sci*. 1998; 20 (1): 43–4.