

Originalni članci/  
Original articles

PROCENA STEPENA OŠTEĆENJA  
BUBREŽNOG PARENHIMA IZAZVANOG  
HRONIČNOM INTOKSIKACIJOM  
INFUZUMOM ARISTOLOCHIAE  
CLEMATITIS

ASSESSMENT OF RENAL PARENCHYMAL  
INJURY CAUSED BY CHRONIC  
INTOXICATION WITH INFUSION OF  
ARISTOLOCHIA CLEMATITIS

Correspondence to:

Dr Dejan Miljković

Katedra za histologiju i embriologiju  
Medicinski fakultet u Novom Sadu  
Hajduk Veljkova 3  
e-mail: bakster.stockman@gmail.com

Dejan Miljković<sup>1</sup> Dušan Lalošević<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

<sup>2</sup> Pasterov zavod, Novi Sad

*Ključne reči*

miševi, *Aristolochia clematitis*,  
stepen oštećenja bubrega,  
difuzni tubulointesticijalni nefritis

*Key words*

mice, *Aristolochia clematitis*,  
renal parenchymal injury,  
diffuse tubulointerstitial nephritis

*Sažetak*

**Uvod:** Biljke iz roda *Aristolochia* se koriste u tradicionalnoj medicini kao umirujuće, purgativno, antiinflamatorno i antihelminsko sredstvo. U savremenoj medicini za ove biljke je dokazano da poseduju izrazito nefrotoksično dejstvo i da su jedan od bitnih etioloških faktora za nastanak balkanske endemske nefropatije (BEN). **Cilj:** Cilj ovog rada je ispitivanje da li biljke roda *Aristolochia* imaju nefrotoksičan efekat, procena stepena oštećenja bubrežnog parenhima i utvrđivanje razlike u stepenu oštećenja kod hronične primene različitih koncentracija infuzuma biljke *Aristolochiae clematitis*. **Materijal i metode:** Kao eksperimentalne životinje korišćeni su odrasli beli miševi soja NMRI oba pola koji su podeljeni u četiri grupe po 15 jedinki: Grupa 1 – koja je dobijala infuzum od 10g/1000ml, Grupa 2 - koja je dobijala infuzum od 20g/1000ml, Grupa 3 - koja je dobijala infuzum od 40g/1000ml i kontrolna grupa koja je dobijala samo vodu. Pri obdukcovanju su izdvojeni bubrezi svake jedinke koji su adekvatno fiksirani i dehidrirani. Bubrežno tkivo je kalupljeno u parafinu i sečeno na mikrotomu. Isečci su bojani hematoksilinom i eozinom (H&E). Stepem oštećenosti bubrežnog parenhima je procenjen semikvantitativnom metodom na svetlosnoj mikroskopiji. Student t-test i jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA) su korišćeni za utvrđivanje razlike između kontrole i eksperimentalnih grupa.

**Rezultati:** Karakteristične promene koje se mogu videti u bubrežnom parenhimu predstavljaju difuzni tubulointesticijalni nefritis. U poređenju stepena oštećenja bubrežnog parenhima kontrolne grupe ( $n_k=15$ ,  $\bar{x}=0.17$ ,  $SD=0.38$ ) i pojedinačno svake eksperimentalne grupe ( $n_1=15$ ,  $\bar{x}=1.03$ ,  $SD=0.18$ ;  $n_2=15$ ,  $\bar{x}=1.30$ ,  $SD=0.65$ ;  $n_3=15$ ,  $\bar{x}=3.30$ ,  $SD=1.18$ ),  $p<0.001$ , utvrđena je statistička značajnost. Takođe je utvrđena statistički značajna razlika kod sve tri eksperimentalne grupe koje su dobijale različite koncentracije infuzuma ( $p<0.001$ ).

**Zaključak:** Infuzum *Aristolochiae clematitis* deluje nefrotoksično i izaziva oštećenja bubrežnog parenhima koja su različitog stepena. Stepem oštećenja bubrežnog parenhima se razlikuje u zavisnosti od primenjene koncentracije infuzuma.

*UVOD*

Vučja jabuka (*Aristolochia clematitis*) predstavlja korovsku biljku koja pripada rodu *Aristolochia*. Biljke iz ovog roda su se koristile u srednjovekovnoj medicini u raznorazne terapijske svrhe. U pojedinim krajevima Indije i danas se kod životinja i ljudi u tradicionalnoj medicini

koristi koren biljke *Aristolochia indica*. Za ovu biljku se tvrdi da ima adstrigentno, umirujuće, digestivno, purgativno, antiinflamatorno i antihelminsko dejstvo. Prema istraživanju u Indiji, utvrđeno je da vodeni rastvor *Aristolochia indica* ima uticaj na inhibiciju izleganja jaja i razvoja larvi kod nematode *Haemonchus contortus* (1).

U savremenoj medicini opšte je poznato da biljke iz roda *Aristolochia* imaju toksično dejstvo, pre svega na bubrežni parenhim. Smatra se da je aristolohična kiselina, koja se nalazi u ovoj biljci, odgovorna za pojavu oboljenja kao što su kineska biljna nefropatija i balkanska endemska nefropatija (BEN) (2).

U periodu 1992-1993. godine u Belgiji je zabeleženo rapidno progresivno otkazivanje bubrega kod dve mlade žene, koje je bilo povezano sa korišćenjem kineskih čajeva za mršavljenje (3). Glavna patološka promena koja je uočena na biopsijama bubrega je bila intersticijska fibroza sa atrofijom i oštećenjem tubulskog parenhima. Kasnije je došlo do pojave oko 70 slučajeva sa sličnim simptomima i histopatološkim lezijama nakon čega je utvrđeno da se u čaju nalazi koren biljke *Aristolochia fangchi* koji se sticajem okolnosti našao u biljnoj mešavini (4). Tako je utvrđeno da je ova biljka iz roda *Aristolochia* toksična i da se smatra glavnim faktorom otkazivanja bubrežne funkcije kod ljudi izloženih kineskim čajevima za mršavljenje.

BEN je hronična tubulointersticijska bolest sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom koja se javlja u selima koja se nalaze blizu pritoka reke Dunav u Bosni i Hercegovini, Bugarskoj, Hrvatskoj, Rumuniji i Srbiji. Etiologija BEN nije do kraja razjašnjena, a mogući uzročnik je koronavirus koji se prenosi sa svinja i deluje kao spora virusna infekcija (5). Sličnosti u morfološkoj i kliničkoj slici BEN i kineske biljne nefropatije potkrepljuju mogućnost zajedničkog etiološkog agensa, toksina iz korovske biljke iz roda *Aristolochia*. Ova tvrdnja je dokazana pronalaskom aristolohične kiseline u brašnu dobijenom od pšenice kontaminirane semenom biljke *Aristolochia clematitis* (6), što je još davne 1969. godine uočio Ivić (7) u eksperimentima na zečevima. Nefrotoksičnost aristolohične kiseline je potvrđena u mnogim kasnijim ispitivanjima na eksperimentalnim životinjama.

## CILJ RADA

Kako se kod nas fitoterapijom bave osobe bez odgovarajućeg obrazovanja, mogućnost pogrešne primene i toksičnog efekta biljaka svakako postoji. Cilj ovog rada je ispitivanje da li biljke roda *Aristolochia* kod nas imaju nefrotoksičan efekat, procena stepena oštećenja bubrežnog parenhima i utvrđivanje razlike u stepenu oštećenja kod hronične primene različitih koncentracija infuzuma biljke *Aristolochia clematitis* prikupljene u regionu Novog Sada kod laboratorijskih miševa.

## MATERIJAL I METODE

### Infuzum vučje jabuke (*Aristolochia clematitis*)

Biljni materijal, korišćen u ovom eksperimentu, sakupljen je u toku maja meseca 2010. godine na obroncima Fruške gore. Sasušeni listovi, grane i plodovi biljke *Aristolochia clematitis* su potopljeni u ključalu vodu i ostavljeni 3-5 sati da stoje a potom su profiltrirani kroz filter papir. Pravljen je rastvor biljke od 10g/1000ml, 20g/1000ml i 40g/1000ml vode. Ove koncentracije infuzuma su date miševima da piju u neograničenoj količini u periodu od 7 nedelja.

### Eksperimentalne životinje

Eksperiment je izveden u Pasterovom zavodu u Novom Sadu na odraslim laboratorijskim miševima soja NMRI oba pola, približno jednake težine i uzrasta (25g). Ukupan broj tretiranih miševa je 60 od čega je 30 jedinki ženskog pola a preostalih 30 muškog pola.

Životinje su podeljene u četiri grupe po 15 jedinki: Grupa 1 – koja je dobijala infuzum od 10g/1000ml; Grupa 2 – koja je dobijala infuzum od 20g/1000ml; Grupa 3 – koja je dobijala infuzum od 40g/1000ml i kontrolna grupa koja je dobijala samo vodu. U toku eksperimenta šest jedinki je uginulo, dok su preostale žrtvovane produženom etarskom anestezijom nakon 7 nedelja od početka studije.

### Histopatološka tehnika

Sve jedinke su detaljno obdukovane, dok su posebno odvojeni bubrezi svake jedinke i fiksirani u 10% formalinu. Tkivo je zatim dehidrirano u 96% etanolu i izopropil alkoholu, kalupljeno u parafinu i sečeno sa rotacionim mikrotomom marke Leica na uzdužne isečke bubrega debljine 3-5µm. Isečki su bojeni histološkom metodom hematoksilin-eozin (H&E).

### Procena stepena oštećenja bubrežnog parenhima

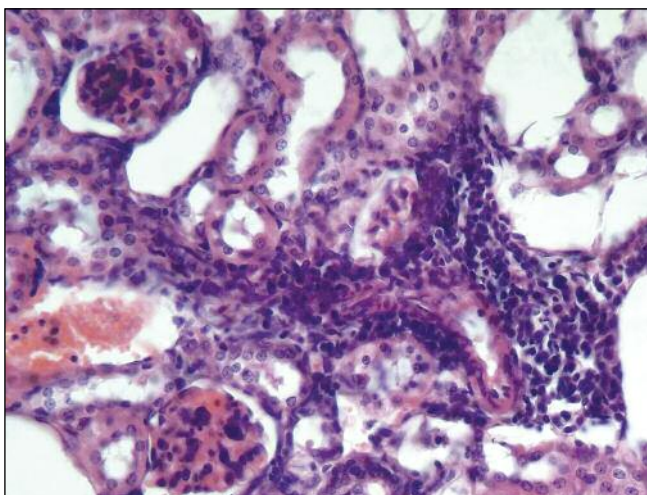
Ukupno 90 bubrega eksperimentalnih životinja je analizirano na svetlosnom mikroskopu Olympus CX21. Korišćenjem digitalne kamere snimljeno je po 10 nasumičnih vidnih polja na uvećanju x200 duž čitavog korteksa bubrega gde su posmatrane promene. Stepenu oštećenja je utvrđen na osnovu prisustva limfocitnih i plazmocitnih infiltrata u intersticijumu i na osnovu dilatacije, atrofije i oštećenja tubulskog parenhima. Za procenu oštećenja korišćena je semikvantitativna metoda. U programu *Image J* je metodom brojanja tačaka koje padaju na oštećeni parenhim utvrđen procenat zastupljenosti oštećenja. U zavisnosti od procenta utvrđivan je stepen oštećenja: stepen 0 (bez postojanja patoloških promena); stepen 1 (manje od 10% prisutnih promena); stepen 2 (10-25% prisutnih promena); stepen 3 (25-50% prisutnih promena); stepen 4 (50-75% prisutnih promena); stepen 5 (75-100% prisutnih promena) (8).

### Statistička analiza

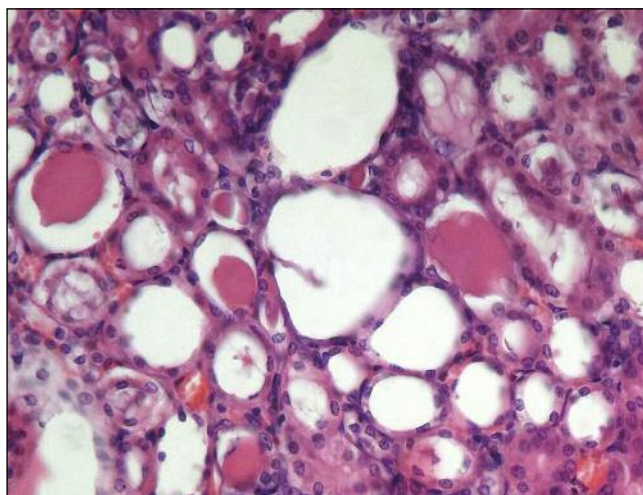
Dobijeni rezultati su obrađeni primenom statističkog programa IBM SPSS Statistics 20.0. U svakoj grupi rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost ( $\bar{x}$ ) ± standardna devijacija (SD). Poređenje srednjih vrednosti stepena oštećenja u svakoj pojedinačnoj eksperimentalnoj grupi sa kontrolnom grupom vršeno je Student t-testom, dok je procena značajnosti razlika stepena oštećenja unutar eksperimentalnih grupa vršena jednofaktorskom analizom varijanse (ANOVA) i Games-Howell testom za nejednake varijanse. Statistički značajnim razlikama smatrane su vrednosti  $p < 0.05$ .

## REZULTATI

Postojanje oštećenja bubrežnog parenhima je potvrđeno na osnovu karakterističnih histopatoloških promena koje se javljaju kod svake eksperimentalne grupe u vidu difuznog intersticijskog nefritisa. Bubrežni parenhim sadrži fokalne nakupine infiltrata limfocita i plazmocita a mestimično i neutrofila u intersticijumu oko proksimalnih i distalnih tubula sa razorenim nefrocitima (slika 1.). Pojedini tubuli su



Slika 1. Bubrežna grupa 3. Fokalni intersticijski leukocitni infiltrat. H&E, x400.



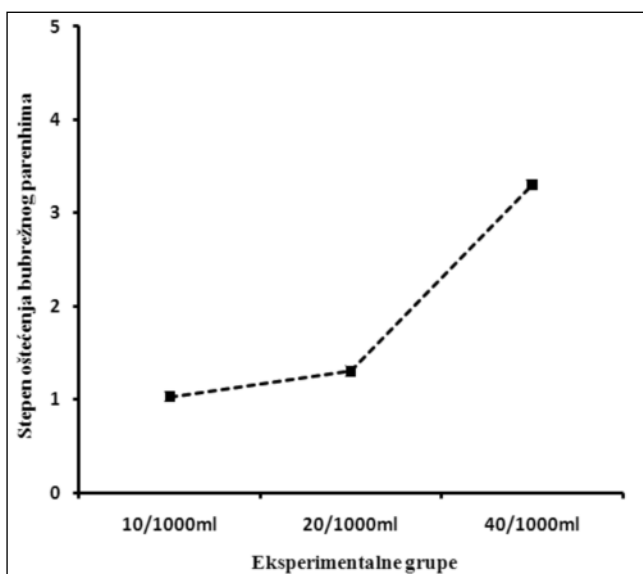
Slika 2. Bubrežna grupa 3. Proteinski cilindri u tubulima. H&E, x400.

povećanog lumena i istanjenog zida odgovarajući hidronefrozi. U brojnim tubulima se mogu uočiti hijalini cilindri koji ispunjavaju lumen (slika 2.). Značajne histopatološke promene na glomerulima na nivou svetlosne mikroskopije nisu uočene ni kod kontrole niti kod jedne od eksperimentalnih grupa.

Semikvantitativnom metodom za određivanje oštećenja bubrežnog parenhima izračunat je stepen oštećenja bubrega svake jedinice, a posle i srednja vrednost svake od ispitivanih grupa. Student t-testom upoređene su srednje vrednosti kontrolne grupe i srednjih vrednosti svake eksperimentalne grupe pojedinačno koje su prikazane u tabeli 1.

Tabela 1. Srednje vrednosti oštećenja bubrežnog parenhima kod kontrolne i tri eksperimentalne grupe

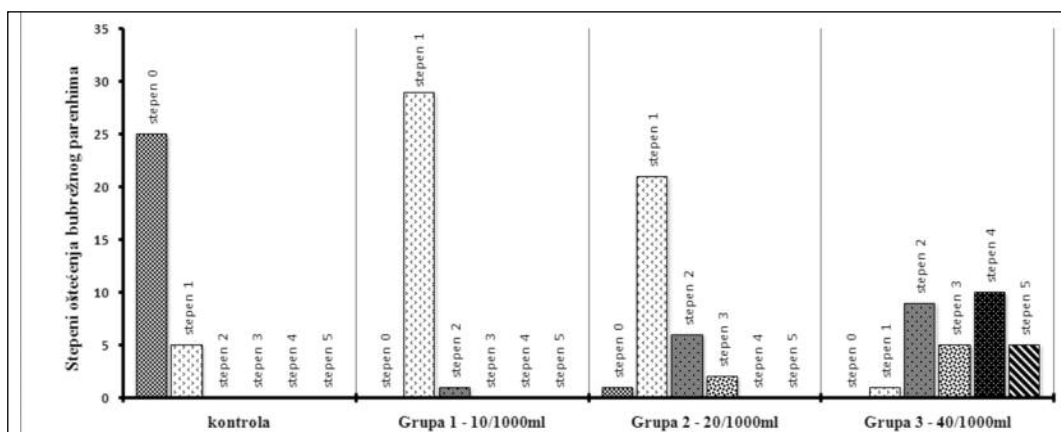
Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
0.17±0.38	Grupa 1 (10/1000ml)	1.03±0.18*
	Grupa 2 (20/1000ml)	1.30±0.65*
	Grupa 3 (40/1000ml)	3.30±1.18*
*p<0.001		



Grafik 1. Srednje vrednosti stepena oštećenja bubrežnog parenhima kod eksperimentalnih grupa

Utvrđeno je da postoji značajna razlika između kontrolne grupe i svake eksperimentalne grupe sa statističkom značajnošću  $p < 0.05$ . Jednofaktorskom analizom varijanse (ANOVA) utvrđena je statistički značajna razlika kod sve tri eksperimentalne grupe koje su dobijale različite koncentracije infuzuma ( $p < 0.001$ ). Naknadnim poređenjima uz pomoć Games-Howell testa je ukazano da se srednja vrednost grupe 3 značajno razlikuje od srednjih vrednosti grupa 1 i 2 ( $p < 0.001$ ). Grupe 1 i 2 se međusobno značajno ne razlikuju (Grafik 1.).

Brojčana zastupljenost stepena oštećenja bubrežnog parenhima varira po grupama, bez značajnije veće zastupljenosti bilo koje od njih, s tim da se u grupi 3, koja je dobijala i najveću koncentraciju infuzuma, nalaze i najteže patohistološke promene stepena 4 i 5 (Grafik 2.).



Grafik 2. Distribucija stepena oštećenja bubrežnog parenhima u zavisnosti od ispitivane grupe

## DISKUSIJA

Naši rezultati pokazali su doznu zavisnost u stepenu oštećenja bubrežnog parenhima kada se pri koncentraciji od 4% infuzuma kod miševa razvila patohistološka slika hroničnog aktivnog intersticijalnog nefritisa za sedam nedelja trajanja eksperimenta. Biljna vrsta *Aristolochia clematitis* pripada rodu *Aristolochia* i familiji *Aristolohiaceae*. Danas je poznato da se u gotovo svim vrstama roda *Aristolochia* nalazi aristolohična kiselina. Dva najvažnija derivata ove kiseline su: aristolohična kiselina I (AA-I) i aristolohična kiselina II (AA-II). Dva najčešća oboljenja koja se vezuju za aristolohičnu kiselinu su balkanska endemska nefropatija (BEN) i kineska biljna nefropatija.

Kineska biljna nefropatija je progresivna intersticijalna fibroza bubrega, koja najčešće dovodi do teškog oblika intersticijske bolesti bubrega kao i kasnijeg potpunog prestanka bubrežne funkcije što je uočeno kod ljudi koji su koristili kineske čajeve za mršavljenje (9,10). U našem eksperimentu je korišćen infuzum sušene biljke koji je oralno davan eksperimentalnim životinjama da bi se uvidela sličnost sa ljudima koji su koristili biljne čajeve za mršavljenje sa ekstraktima ove biljke. Nakon hronične intoksikacije kod laboratorijskih miševa u našem istraživanju je takođe utvrđena nefrotoksičnost infuzuma *Aristolochiae clematitis* slična onoj kakva se opisuje kod kineske biljne nefropatije (11). Pored najznačajnijeg nefrotoksičnog dejstva biljaka iz roda *Aristolochia* poznato je i moguće kancerogeno dejstvo u različitim tkivima eksperimentalnih životinja. Sprovedena je samo jedna studija o uticaju aristolohične kiseline na miševе gde je uočeno postojanje tumora urinarnog sistema i želuca (12). U našem istraživanju nije došlo do javljanja bilo kakvih tumora, verovatno zbog nedovoljno dugog izlaganja eksperimentalnih životinja toksinu biljke. Takođe postoje zabeleženi slučajevi gde je kod ljudi, sa nefropatijom izazvanom biljkama iz roda *Aristolochia*, dijagnostikovana pojava urotelijalnih tumora (13). Dokazi o kancerogenosti prirodnih mešavina aristolohičnih kiselina još uvek u potpunosti nisu razjašnjeni kao što je to i slučaj sa kineskom biljnom nefropatijom.

BEN se karakteriše difuznom kortikalnom intersticijskom fibrozom, koja je hipocelularna u većini slučajeva, i tubulskom atrofijom koja opada od spoljašnjeg ka unutrašnjem korteksu. Dvadeset ili više godina može da prođe pre nego što dođe do ispoljavanja poremećaja renalne funkcije. Spori i podmukao tok ove endemske bolesti mogao bi biti

zbog dugogodišnjeg niskog unosa toksina iz ove biljke (2,8). Ranije eksperimentalne studije na životinjama, koje upućuju na sličnost BEN sa nefropatijom koja se javlja usled oralne ili peritonealne administracije aristolohične kiseline, potvrđuju prisustvo karakterističnih histopatoloških promena u vidu oštećenja bubrežnog parenhima i javljanja intersticijalne fibroze (14,15). Prema našim saznanjima procena oštećenja bubrežnog parenhima semikvantitativnom metodom kod intoksikacije eksperimentalnih životinja toksinima iz biljaka roda *Aristolochia* još nije zabeležena u dostupnoj literaturi, tako da smo naše istraživanje bazirali na osnovu metoda koje su se koristile na drugim eksperimentalnim modelima kod kojih se javlja oštećenje parenhima bubrega. Kao i kod kineske biljne nefropatije zabeleženi su pojedinačni slučajevi pojave tumora gornjih urinarnih puteva. Prema istraživanju iz 2008. godine BEN i tumori gornjih urinarnih puteva koji su povezani sa BEN verovatno imaju iste ili slične etiološke faktore (16). Postoji veliki broj hipoteza koje se tiču etioloških faktora ove bolesti. Među njih spadaju predisponirajući genetski faktori i faktori spoljašnje sredine. U potencijalne faktore spoljašnje sredine spadaju teški metali, minerali (pliocenski lignit), virusi (*Corona-virusi*), mikotoksini i toksini biljaka (*Aristolochia spp.*) (17). Na osnovu svih ovih hipoteza o etiološkim faktorima, smatra se da BEN ima multifaktorsku etiologiju i zbog toga je jasno zašto je prošlo već više od 50 godina a da etiologija ovog oboljenja nije detaljno razjašnjena.

## ZAKLJUČAK

Naše istraživanje je nedvosmisleno ukazalo na nefrotoksičnost infuzuma *Aristolochiae clematitis*. Usled hronične intoksikacije infuzumom dolazi do oštećenja bubrežnog parenhima kod laboratorijskih miševa i na osnovu karakterističnih histopatoloških promena koje se javljaju kod svake eksperimentalne grupe može se zaključiti da to predstavlja oblik difuznog intersticijalnog nefritisa sa vidno oštećenim tubulskim parenhimom. S obzirom da postoje bitne statističke razlike između eksperimentalnih grupa i da se najveća oštećenja mogu videti u eksperimentalnoj grupi koja je dobijala najveću koncentraciju infuzuma, možemo tvrditi da sa povećanjem koncentracije infuzuma raste i stepen oštećenosti bubrežnog parenhima.

*Abstract*

**Introduction:** Plants of the genus *Aristolochia* are used in traditional medicine as a soothing, laxative, anti-inflammatory and antihelminthic remedy. According to modern medicine research, these plants possess strong nephrotoxic effect and they are one of the most important etiological factors for Balkan endemic nephropathy. **Aim:** The aim of this work was to investigate whether the plant of genus *Aristolochia* have nephrotoxic effects, to assess renal parenchymal injury (RPI) and to investigate the extent of RPI caused by chronic intoxication with infusion of plant *Aristolochia clematitis*. **Material and methods:** Experimental animals that were used in this study were adult white mice of NMRI strain, of both sexes. They were divided into four groups of 15 animals: Group 1-which received infusion of 10g/1000ml, Group 2-which received infusion of 20g/1000ml, Group 3-which received infusion of 40g/1000ml and a control group that received only water. Postmortem kidneys of each individual were taken and adequately fixed and dehydrated. Renal tissue was embedded in paraffin and cut on a microtome. Sections were stained with hematoxylin and eosin (H&E). RPI was assessed with semi-quantitative method. Student t-test and One-way analysis of variance (ANOVA) were used to determine differences between control and experimental groups. **Results:** Characteristic histopathological changes that can be seen in the renal parenchyma under light microscopy represent diffuse tubulointerstitial nephritis. There was a significant statistical significance, when comparing grades of RPI of control group ( $n_k=15$ ,  $\bar{x}=0.17$ ,  $SD=0.38$ ) and RPI of each experimental group ( $n_1=15$ ,  $\bar{x}=1.03$ ,  $SD=0.18$ ;  $n_2=15$ ,  $\bar{x}=1.30$ ,  $SD=0.65$ ;  $n_3=15$ ,  $\bar{x}=3.30$ ,  $SD=1.18$ ),  $p<0.001$ . Statistically significant difference was also found in all three experimental groups that received different concentration of infusion ( $p<0.001$ ). **Conclusion:** Infusion of *Aristolochia clematitis* is highly nephrotoxic and causes damage to the renal parenchyma, with different grades. The extent of RPI differs, depending on the concentration of infusion.

**LITERATURA**

1. Mini KP, Venkateswaran KV, Gomathinayagam S, Selvasubramanian S, Bijargi SR. In vitro anthelmintic effect of aqueous and ethanol extract of *Aristolochia indica* against *Haemonchus contortus*. *J Phys Pharm Adv.* 2013; 3(6): 148-158.
2. Grollman AP, Jelaković B. Aristolochic Acid Nephropathy - An Environmental and iatrogenic Disease. In: Fishbein JC. *Advances in Molecular Toxicology*, Volume 3. University of Maryland, Baltimore; 2009; p. 218-223.
3. Vanherweghem JL, Depierreux M, Tielemans C et al. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs. *Lancet.* 1993; 341: 387-391.
4. Vanhaelen M, Vanhaelen-Fastre R, But P, Vanherweghem JL. Identification of aristolochic acid in Chinese herbs. *Lancet.* 1994; 343(8890): 174.
5. Apostolov K, Spasic P, Bojanic N. Evidence of a viral aetiology in endemic (Balkan) nephropathy. *Lancet.* 1975;2(7948): 1271-3.
6. Čukuranović R, Vlajković S, Daković-Bjelaković M, Jovanović I, Ugrenović S, Čukuranović J. Balkanska endemska nefropatija danas - pola veka nakon otkrića. *MD-Medical Data.* 2009; 1(2): 41-44.
7. Ivić M. The problem of etiology of endemic nephropathy. *Acta Fac Med Naissensis.* 1970; 1: 29-38.
8. Suga SI, Phillips MI, Ray PE, Raleigh JA, Vio CP, Kim YG et al. Hypokalemia induces renal injury and alterations in vasoactive mediators that favor salt sensitivity. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001; 281: F620-F629.
9. Hall PW, Dammin GJ. Balkan nephropathy. In: Tisher CG, Brenner BM. *Renal pathology with clinical and functional correlations.* J.B. Lippincott Co. Philadelphia; 1989; p. 913.
10. Cosyns JP, Jadoul M, Squifflet JP, de Plaen JF, Ferluga D, Van Ypersele, de Strihou C. Chinese herbs nephropathy: a clue to Balkan endemic nephropathy? *Clin Invest Kidney Int.* 1994; 45: 1680-1688.
11. Poda R, Culea M, Fromondi L. The determination of therapeutic compounds from *Aristolochia clematitis* by GC/MS. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai, Physica.* 2001; Issue no. Special Issue: 378-384.
12. Mengs U. Tumor induction in mice following exposure to aristolochic acid. *Arch Toxicol.* 1988; 61: 504-505.
13. Arlt VM. Aristolochic acid: a potent human carcinogen found in traditional herbal remedies. *ECNIS Newsletter*, No. 2, 2006; p. 11-14.
14. Shibutani S, Dong H, Suzuki N, Ueda S, Miller F, Grollman AP. Selective toxicity of aristolochic acids I and II. *Drug Metabolism and Disposition.* 2007; 35(7): 1217-1222.
15. Debelle FD, Nortier JL, De Prez EG, Garbar CH, Vienne AR, Salmon IJ et al. Aristolochic acid induce chronic renal failure with interstitial fibrosis in salt-depleted rats. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13(2): 431-436.
16. Stefanovic V, Radovanovic Z. Balkan endemic nephropathy and associated urothelial cancer. *Nat Clin Pract Urol.* Feb2008;5(2): 105-12.
17. Pfohl-Leszkiwicz A, Petkova-Bocharov T, Chernozemsky IN, Castegnaro M. Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: a review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. *Food Additives and Contaminants.* 2002; 19 (3): 282-302.