

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET

Ivan Brzić

**UČINCI POLJOPRIVREDNIH TEHNOLOŠKIH UNAPRJEĐENJA
NA IZLOŽENOST ARISTOLOHIČNOJ KISELINI U
STANOVNIKA ENDEMSKIH SELA**

Doktorski rad

Rijeka, 2026.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET

Ivan Brzić

**UČINCI POLJOPRIVREDNIH TEHNOLOŠKIH UNAPRJEĐENJA
NA IZLOŽENOST ARISTOLOHIČNOJ KISELINI U
STANOVNIKA ENDEMSKIH SELA**

Doktorski rad

Mentor rada: prof. dr. sc. Zlatko Trobonjača, dr.med.

Komentor rada: akademik Bojan Jelaković, dr. med.

Rijeka, 2026.

UNIVERSITY OF RIJEKA
FACULTY OF MEDICINE

Ivan Brzić

**EFFECTS OF AGRICULTURAL TECHNOLOGICAL
IMPROVEMENTS ON ARISTOLOCHIC ACID EXPOSURE IN
RESIDENTS OF ENDEMIC VILLAGES**

Doctoral dissertation

Mentor: Professor Zlatko Trobonjača, PhD, MD

Comentor: Academician Bojan Jelaković, PhD MD

Rijeka, 2026.

Mentori rada: prof. dr. sc. Zlatko Trobonjača, dr.med.

Komentor rada: akademik Bojan Jelaković, dr. med.

Doktorski rad obranjen je dana _____ u/na _____
_____, pred povjerenstvom u sastavu:

1. _____ (titula, ime i prezime)

2. _____ (titula, ime i prezime)

3. _____ (titula, ime i prezime)

4. _____ (titula, ime i prezime)

5. _____ (titula, ime i prezime)

Rad ima _____ listova.

UDK: _____

PREDGOVOR

Doktorski rad izrađen je u Katedri za socijalnu medicinu i epidemiologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci, u Zavodu za nefrologiju, arterijsku hipertenziju, dijalizu i transplantaciju i Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkoga bolničkog centra Zagreb, te u suradnji s Odjelom za prehrambenu tehnologiju, Sveučilišnog centra Koprivnica, Sveučilišta Sjever. Disertacija je izrađena u okviru znanstveno-istraživačkoga projekta Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta br. 108-0000000-0329 "Endemska nefropatija u Hrvatskoj - epidemiologija, dijagnostika i etiopatogeneza", voditelj projekta akademik Bojan Jelaković, te znanstveno-istraživačkoga projekta "Epidemiologija hipertenzije i unos kuhinjske soli u Hrvatskoj, EH - UH 2", pod voditeljstvom akademika Bojana Jelakovića, financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost, IP-2016-06-9033.

ZAHVALA

Ovim putem izražavam svoje poštovanje i zahvalnost koje dugujem svojim mentorima akademiku Bojanu Jelakoviću, dr. med. i prof. dr. sc. Zlatku Trobonjači na stručnoj pomoći, vodstvu, korisnim savjetima i potpori tijekom izrade ove doktorske disertacije. Imao sam prije svega veliku sreću i čast što su me ova dva iznimna čovjeka vodila na mome doktorskom putu. Njihovo znanje, iskustvo, podrška i ljudskost ostavili su dubok trag ne samo u izradi ove doktorske disertacije nego i u mojem profesionalnom i osobnom razvoju.

Zahvaljujem također svim suradnicima i prijateljima koji su svojim znanjem, iskustvom i pomoći pridonijeli provedbi istraživanja i izradi ovoga rada.

Zahvaljujem svim kolegicama i kolegama koji su bili uključeni u projekte i svojim radom pridonijeli uspjehu ne samo ovog rada nego cijelog projekta i ukupnog istraživanja, te svim ispitanicima koji su se odazvali i pristali sudjelovati u projektu.

Zahvaljujem svojim roditeljima, užoj i široj obitelji na razumijevanju, strpljenju i trajnoj podršci tijekom studija i izrade doktorske disertacije te također na velikoj pomoći u radu na terenu.

Posebnu zahvalnost upućujem mojoj supruzi Mariji i kćerki Ani te našem Luki za ljubav, potporu i motivaciju koju su mi davali još od vremena dok je Ana u Marijinom trbuhu zajedno sa nama išla po terenu skupljati uzorke i brojati biljke. Bez svakog od vas ovaj rad ne bi bio moguć.

SAŽETAK

Cilj istraživanja: bio je utvrditi jesu li promjene u poljoprivrednoj i mlinarskoj tehnologiji smanjile izloženost stanovništva aristolohičnoj kiselini, glavnom uzročniku Balkanske nefropatije (BEN). Posebno se analiziralo je li prelazak s malih lokalnih mlinova i slabije tehnologije čišćenja zrna na modernu žetvu, separaciju, uporabu herbicida i centraliziranu preradu pšenice doveo do smanjenja kontaminacije brašna sjemenkama biljke *Aristolochia clematitis*.

Ispitanici i metode: Istraživanje je obuhvatilo stanovnike endemskih i neendemskih sela te analizu promjena u poljoprivrednoj i mlinarskoj praksi. Prikupljeni su demografski i klinički podaci, određena je prevalencija BEN-a te su analizirani trendovi incidencije na temelju bolničkih podataka. Usporedno su istraženi prisutnost i raspored biljke *A. clematitis* na poljoprivrednim površinama, koncentracija aristolohične kiseline u tlu i pšenici te povijesni tijek tehnoloških promjena.

Rezultati: Utvrđen je značajan pad prevalencije i incidencije BEN-a, a model predviđa praktično iščezavanje bolesti tijekom 2040-ih godina. Biljka *A. clematitis* češće je prisutna na poljoprivrednim površinama endemskog područja, osobito u središnjim dijelovima oranica. Aristolohična kiselina nije dokazana u samim zrnima pšenice, što upućuje na to da je kontaminacija kruha u prošlosti nastajala mljevenjem sjemenki *A. clematitis* zajedno s pšenicom. Modernizacija žetve, bolja separacija zrna, centralizirano skladištenje i prerada te uporaba herbicida znatno su smanjili mogućnost ulaska tih sjemenki u brašno.

Zaključak: Rezultati potvrđuju da je BEN okolišni oblik nefropatije aristolohične kiseline uzrokovan aristolohičnom kiselinom, pri čemu je ključan bio unos preko kontaminiranog brašna i kruha. Sama prisutnost biljke nije dovoljna za pojavu bolesti, nego su važni njezina brojnost, položaj u poljima i tehnološke mogućnosti žetve i prerade. Tehnološka unapređenja u proizvodnji i preradi pšenice prekinula su ili znatno smanjila izloženost aristolohičnoj kiselini, što je dovelo do postupnog nestajanja BEN-a u Hrvatskoj.

Ključne riječi: *Aristolochia clematitis* L; Aristolohična kiselina; Balkanska nefropatija; Epidemiologija; Kronična bubrežna bolest; Tehnologija žetve;

SUMMARY

Aim of the study: was to determine whether changes in agricultural and milling technology reduced the population's exposure to aristolochic acid, the main cause of Balkan endemic nephropathy (BEN). In particular, the study analyzed whether the transition from small local mills and less efficient grain-cleaning technology to modern harvesting, grain separation, herbicide use, and centralized wheat processing led to a reduction in flour contamination with seeds of the plant *Aristolochia clematitis*.

Subjects and methods: The study included residents of endemic and non-endemic villages, as well as an analysis of changes in agricultural and milling practices. Demographic and clinical data were collected, the prevalence of BEN was determined, and incidence trends were analyzed based on hospital data. In parallel, the presence and distribution of *A. clematitis* on agricultural land, the concentration of aristolochic acid in soil and wheat, and the historical course of technological changes were examined.

Results: A significant decrease in the prevalence and incidence of BEN was observed, and the model predicts the practical disappearance of the disease during the 2040s. The plant *A. clematitis* was more frequently present on agricultural land in the endemic area, especially in the central parts of arable fields. Aristolochic acid was not detected in wheat grains themselves, suggesting that bread contamination in the past occurred when *A. clematitis* seeds were milled together with wheat. Modern harvesting, improved grain separation, centralized storage and processing, and herbicide use greatly reduced the possibility of these seeds entering flour.

Conclusion: The results confirm that BEN is an environmental form of aristolochic acid nephropathy caused by aristolochic acid, with ingestion through contaminated flour and bread playing a key role. The mere presence of the plant is not sufficient for the disease to occur; rather, its abundance, position in fields, and the technological capacity for harvesting and processing are important. Technological improvements in wheat production and processing interrupted or substantially reduced exposure to aristolochic acid, leading to the gradual disappearance of BEN in Croatia.

Keywords: *Aristolochia clematitis* L; Aristolochic acid; Balkan nephropathy; Epidemiology; Chronic kidney disease; Harvesting technology

SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA	1
1.1. Povijesni osvrt.....	1
1.2. Definicija Balkanske nefropatije	5
1.3. Epidemiologija, etiologija, klinička slika, dijagnostika i liječenje	5
1.3.1.Epidemiologija	5
1.3.2. Etiologija.....	10
1.3.3. Laboratorijske karakteristike Balkanske nefropatije	16
1.3.4. Postavljanje dijagnoze i klasifikacija Balkanske nefropatije	17
1.3.5. Klinička slika	19
1.3.6. Patohistološki nalaz	21
1.3.7. Karcinomi prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava	22
1.3.8. Liječenje.....	24
1.4. Rasprostranjenost biljke <i>Aristolochia clematitis</i> i poljoprivredno-mlinarska tehnologija.....	25
1.4.1.Botanički opis i rasprostranjenost.....	25
1.4.2. Kemijski sastav i toksikologija	26
1.4.3. Povijesna uporaba i regulacija	27
1.4.4. Etnofarmakološki i javnozdravstveni aspekti.....	27
1.4.5. Rasprostranjenost i ekološke značajke	28
1.5. Uzgoj pšenice	30
1.5.2. Alati za obradu tla	32
1.5.3. Unaprjeđenje poljoprivrede u endemskom području	33
1.5.4. Herbicidi	38

1.5.5. Žetva i tehnologija žetve	40
1.5.6. Mlinovi i tehnologija mljevenja pšenice, od primitivnijih (vodenica) do suvremenijih mlinova.....	45
1.5.6.1. Mlinarstvo na rijeci Savi.....	46
1.5.6.2. Ketuški mlinovi	46
1.5.6.3. Tehnološki razvoj i modernizacija mlinarstva	49
2. CILJ ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZA.....	50
3. ISPITANICI I METODE	52
3.1. Epidemiološko-klinički dio istraživanja.....	52
3.1.1. Odabir ispitanika, klinički pregled i upitnici	52
3.1.1.1. <i>Odabir ispitanika za određivanje prevalencije Balkanske nefropatije.....</i>	52
3.1.1.2. <i>Metode – Klinički pregled, definicije i upitnik.....</i>	56
3.1.1.3. <i>Određivanje prevalencije i praćenje promjena ovisno o promjenama tehnologije</i>	57
3.1.1.4. <i>Određivanje promjena incidencije novih bolesnika liječenih dijalizom</i>	58
3.1.1.5. <i>Određivanje učestalosti drugih faktora rizika za kroničnu bubrežnu bolest i usporedba obilježja ispitanika endemskoga kraja s obilježjima drugih seoskih sredina u Hrvatskoj.....</i>	58
3.2. Istraživanja vezana uz distribuciju/prisutnost biljke <i>Aristolochia clematitis</i> na poljima (određivanje niše), utvrđivanje prostornog korištenja zemljišta kod skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi i određivanje prisutnosti aristolohične kiseline u tlu i pšenici	63
3.2.1. Definiranje ekološke niše vrste <i>Aristolochia clematitis</i> na cijelom arealu	63
3.2.2. Određivanje prisutnost biljke <i>Aristolochia clematitis</i> na poljoprivrednim površinama u Hrvatskoj.....	67
3.2.3. Određivanje prisutnosti aristolohične kiseline u tlu i pšenici	70

3.2.4. Utvrđivanje prostornog korištenja zemljišta kod skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi	75
3.3. Statistička obrada podataka.....	78
3.4. Etički aspekti istraživanja	80
4. REZULTATI.....	82
4.1. Trendovi prevalencije Balkanske nefropatije u Hrvatskoj.....	82
4.1.1. Trendovi incidencije novih bolesnika s Balkanskom nefropatijom koji počinju liječenje hemodijalizom u lokalnoj bolnici u Slavonskom Brodu	83
4.1.2. Model praktičnog iščezavanja Balkanske nefropatije u hrvatskom endemskom žarištu na temelju prevalencije bolesti i terminalnih ishoda	86
4.1.3. Faktori rizika za kroničnu bubrežnu bolest i karakteristike seoskog stanovništva	87
4.2. Rezultati o ekologiji vrste <i>Aristolochia clematitis</i> , širina ekološke niše i njezina diferencijacija na cijelom području rasprostranjenosti vrste, dobiveni korištenjem Indeksa ekološke specijalizacije (ESI) vrste	89
4.2.1. Obilježja ekološke niše vrste <i>Aristolochia clematitis</i>	89
4.2.2. Diferencijacija ekološke niše	91
4.2.3. Razlike između ruba i središta područja distribucije.....	94
4.2.4. Prisutnost biljke <i>Aristolochia clematitis</i> na poljoprivrednim površinama	98
4.2.5. Prisutnost aristolohične kiseline u tlu i sjemenu pšenice u uzorcima iz endemskoga i neendemskoga kraja.....	106
4.2.6. Prostorno korištenje zemljišta skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi ..	112
4.3. Promjene - napredak u tehnologiji žetve i prerade pšenice u endemskom kraju u XX. Stoljeću.....	119

4.3.1. Karakteristike polja, te poljoprivredno tehnološki postupci uzgoja, skladištenja pšenice stanovnika endemskih i neendemskih sela, te promjene u odnosu na period prije 1970. godine	119
4.3.1.1. Podaci o kvaliteti polja i poljoprivredno-tehnološkim postupcima	119
4.3.1.2. Podaci o skladištenju pšenice i korištenju mlinova	120
4.3.2. Kronologija promjena u tehnologiji žetve, separacije i prerade pšenice u endemskom kraju tijekom XX. stoljeća.....	124
5. RASPRAVA.....	126
5.1. Glavno značenje dobivenih rezultata	127
5.2. Pad prevalencije Balkanske nefropatije i epidemiološko značenje	127
5.3. Značenje pada terminalnih ishoda: hemodijaliza i urotelni karcinomi.....	128
5.4. Zašto drugi čimbenici rizika za kroničnu bubrežnu bolest ne mogu objasniti pad prevalencije Balkanske nefropatije	130
5.5. Ekologija <i>Aristolochiae clematidis</i> i pitanje zašto ubikvitarna biljka dovodi do endemske bolesti	131
5.6. Povezivanje ekoloških rezultata s anketnim podacima o prisutnosti biljke nekada i danas	134
5.7. Prostorna raspodjela biljke unutar parcela i epidemiološko značenje	135
5.8. Aristolohična kiselina u tlu i odsutnost u sjemenu pšenice.....	135
5.9. Tehnološka tranzicija u žetvi, separaciji, skladištenju i mljevenju kao središnje objašnjenje	137
5.10. Uloga melioracija, tla i prostornog korištenja zemljišta.....	138
5.11. Što rezultati govore o prirodi Balkanske nefropatije u Hrvatskoj danas	140
5.12. Ograničenja istraživanja.....	140
5.13. Znanstveni doprinos rada	141

5.14. Završna sinteza.....	141
6. ZAKLJUČCI.....	145
7. LITERATURA.....	148
POPIS SLIKA	167
POPIS TABLICA.....	171
POPIS POKRATA	173
PRILOZI.....	177

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.1. Povijesni osvrt

Balkanska nefropatija (BEN) je kao zaseban entitet prepoznata koncem 50-ih godina prošloga stoljeća, a prva istraživanja u Hrvatskoj su u Brodskoj Posavini organizirali dr. Olga Pichler i dr. Emil Bobinac 1958. godine. Istraživanja u Hrvatskoj su bila usmjerena na dva cilja – određivanje pouzdanoga dijagnostičkog testa za probir i ranu dijagnostiku, te na istraživanja etiologije ove kronične bubrežne bolesti (KBB) koja je učestalo udružena s karcinomima gornjeg dijela mokraćnog sustava (UCC). Već od samog početka u selima zapadno od Slavonskoga Broda gdje se nalazi žarište BEN-a u Hrvatskoj organizirana su masovna istraživanja cijele populacije koja su nazvana „perlustracije“. Epidemiološki dio uspješno su vodili dr. Stjepan Čeović i profesor Ante Hrabar. U kliničkome dijelu ključno mjesto ima profesor Milovan Radonić koji uz analizu tijeka i obilježja bolesnika uvodi biopsije bubrega te zajedno s profesoricama Dubravkom Čvorišćec i Anom Stavljenić Rukavinom testira čitav niz biljega oštećenja tubula s ciljem određivanja biljega koji će biti dovoljno specifičan i osjetljiv. Uz njega aktivni su profesori Zdenko Radošević i Zvonimir Horvat, te brodski nefrolozi na čelu s dr. Josipom Čeovićem. U kasnijim istraživanjima priključuju se urolozi koje predvodi dr. Zvonimir Medverec. Svoj obol razumijevanju kliničkoga tijeka, a kasnije i etiologije dali su patolozi na čelu s dr. Matom Vukelićem, profesorom Mladenom Beliczom, dr. Krunoslavom Jakovinom, dr. Tratinčicom Jakovinom i dr. Karlom Tomić.

U prvim godinama istraživanja rano su odbačene hipoteze da je BEN povezana s teškim metalima ili mikroelementima, profesor Ante Hrabar i dr. Borislav Aleraj su testirali virusnu hipotezu koja je također otklonjena. Profesorica Nada Čikeš je analizirala nasljednu komponentu te je zaključila kako bolest nije izravno nasljedna, ali kako vrlo vjerojatno postoji genska sklonost koja dolazi do izražaja uz prisutnost okolišnog čimbenika. Epidemiološki podaci o velikoj učestalosti kronične tubulointersticijske bolesti bubrega i UCC, bolesti koje u drugim dijelovima svijeta nisu učestalo prisutne (a napose ne zajedno), ukazali su kako bi uzročnik mogao/morao biti zajednički i kako je riječ o okolišnom čimbeniku. Prvi okolišni uzročnik koji je testiran bio je mikotoksin – okratoksin A s dokazanim nefrotoksičnim i karcinogenim svojstvima kod svinja i u nekim drugim

animalnim modelima. Ključni istraživači ovoga segmenta su profesor Radovan Pleština, dr. Radovan Fuchs, dr. Maja Peraica na čelu kojih je akademik Marko Šarić. Rezultati njihovih istraživanja značajno su pridonijeli zaključku kako okratoksin A nije rizični čimbenik niti uzročnik BEN-a što je 2006. godine zaključilo i 2020. godine potvrdilo Europsko povjerenstvo za sigurnost hrane. Drugi etiološki čimbenik koji je u interesu već od ranih 60-ih godina prošlog stoljeća je fitotoksin aristolohična kiselina (AA). Prvi ključni rad koji pobuđuje pravi znanstveni interes objavio je u *Liječničkom vjesniku* 1969. godine Milenko Ivić, profesor histopatologije u Nišu koji je u endemskim krajevima Srbije uočio veću rasprostranjenost biljke vučja stopa (*Aristolochia clematitis*) nego u Vojvodini, a povezao BEN je s konzumacijom kruha koji je kontaminiran ovim fitotoksinom. Napravio je i nekoliko *in vivo* animalnih pokusa kojima je dokazao karcinogenost i nefrotoksičnost AA-e. Na žalost istraživanja koja bi razjasnila ulogu AA-a u etiopatogenezi BEN-a tu su stala sve do tragičnoga događaja koji se zbio u Belgiji početkom 90-ih godina prošloga stoljeća. Naime, preparati dobiveni iz raznih dijelova biljki roda aristolohije tisućama godina korišteni su kao lijekovi tradicionalnih medicina Kine, Indije, Japana, a čak postoje dokazi da je i Hipokrat u nekim svojim pripravcima koristio dijelove ove biljke. Tijekom 80-ih godina prošlog stoljeća u klinici za mršavljenje u Belgiji uz ostale mjere su godinama bili korišteni preparati koji su sadržavali razne biljne sastojke pripremljene prema tradicionalnim receptima. No, 90-ih godina prošlog stoljeća netko od osoba zaduženih za pripremu preparata planirao je poboljšati učinkovitost i uspješnost liječenja debljine dodatkom biljke koja ima diuretska svojstva (*Stephania tetrandra*). Zbog nedovoljnog poznavanja kineske farmakopeje umjesto *Stephanie tetrandre* (Han Fang Ji) dodao je nefrotoksičnu i karcinogenu *Aristolochiu fangchi* (Guang Fang Ji). Ubrzo nakon toga u velikog broja žena (5 % izloženih) opaženo je brzo oštećenje bubrežne funkcije koje je završilo terminalnom fazom KBB-a i potrebom liječenja dijalizom, a kasnije je u 44 % žena dijagnosticiran UCC. Prve rezultate objavio je profesor Jean-Louis Vanherweghem, a opažanja o velikoj učestalosti UUC-a objavila je dr. Joelle Noritere. Nekoliko godina kasnije patolozi profesori Jean Cosyns i Dušan Ferluga uočili su patohistološku podudarnost bolesnica kojima je dijagnosticirana nefropatija kineskih trava, kako su u početku bili nazvali tu bolest, i bolesnika s BEN-om. Ti rezultati zajedno s rezultatima koje

je 30-ak godina ranije objavio profesor Milenko Ivić potaknuli su nas na istraživanja koja smo počeli 2003. godine analizom izloženosti AA-u bolesnika s BEN-om liječenih dijalizom u brodskoj bolnici, analizom rasprostranjenosti biljke, te istraživanjima prevalencije bolesnih i „sumnjivih“ da boluju od BEN-a. Naš znanstveni interes dijelio je profesor Arthur Grollman iz Sjedinjenih Američkih Država tako da smo ubrzo uspostavili vrlo uspješnu dugogodišnju suradnju koja je rezultirala potvrdom da je AA uzročni čimbenik BEN-a i pridruženih UUC-a, te da bolest nije ograničena na ovaj dio Europe nego je identična u svim dijelovima svijeta gdje su ljudi unosili ovaj fitotoksin, najsnažniji biljni karcinogen u prirodi, bilo slučajno, kao što je riječ u BEN-u, bilo hotimice kada su koristili preparate koji su sadržavali AA, ili ne znajući da ih unose kao što se dogodilo u Belgiji u klinici za mršavljenje. Rezultati naših istraživanja su objavljeni u vodećim međunarodnim časopisima (PNAS, JASN, CJASN, Kidney International, Carcinogenesis, European Journal of Epidemiology itd). Danas je to prihvaćeno od znanstvene zajednice i ušlo je u sve relevantne svjetske udžbenike. Balkanska nefropatija i nefropatija kineskih trava su jedna bolest koja se naziva nefropatija aristolohične kiseline (AAN). Balkanska nefropatija je okolišni oblik AAN-a, a uzročnik je biljka koja je tisućljećima smatrana ljekovitom. Paralelno s istraživanjima uzročnika BEN-a u periodu od 2003.- 2020. godine organizirali smo četiri velika terenska istraživanja u koja smo uključili preko 3000 ispitanika i na temelju rezultata tih istraživanja opazili smo pad učestalosti BEN-a. Pretpostavili smo da je to odraz manje izloženosti okolišnom toksinu zbog napretka tehnologije žetve i obrade brašna. U toj velikoj skupini analizirali smo dijagnostičke biljege što je rezultiralo prijedlogom novih kriterija za probir i dijagnostiku koji su na koncu prihvaćeni od stručnjaka svih država u kojima su BEN i AAN zdravstveni problem i znanstveni izazov. Osim suradnje s Arthurom Grollmanom ostvarili smo suradnju s nizom eminentnih ustanova i znanstvenika u svijetu (University of Washington, Harvard Medical School, IARC Lyon, New York University, University Erasme, University of Toronto, Klinički centar Srbija). Tijekom više od 60 godina istraživanja u Hrvatskoj je organizirano nekoliko međunarodnih simpozija koji su imali velik odjek. Prvi simpozij održan je 1964. godine u Dubrovniku pod okriljem Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) kada je bolest dobila ime i kada je prvi puta opisana klinička slika. Drugi veliki simpozij održan je 1996. godine u Hrvatskoj

akademiji znanosti i umjetnosti (HAZU) i u Slavonskome Brodu što je bila kruna dotadašnjih istraživanja. Treći simpozij održan je 2006. godine u Zagrebu na kojem su vodeći znanstvenici svijeta raspravljali o dva okolišna toksina – okratoksinu A i AA-u nakon kojega je mikotoksin stavljen *ad acta* (a to je potvrdila i Europska komisija), te su otvorena vrata AA-u i našim ostvarenjima. Četvrti simpozij održan je 2008. godine na Braču pod okriljem SZO i National Institute for Health (NIH) na kojemu je ekspertna skupina iz cijeloga svijeta na našu inicijativu raspravljala i usvojila konsenzus o novim dijagnostičkim kriterijima. Peti simpozij održan je 2018. godine u HAZU i u Slavonskome Brodu, a tim simpozijem je obilježeno 60 godina istraživanja BEN-a što se poklopilo s 25 godina od prvoga opisa nefropatije kineskih trava, tj. AAN-a. Istraživanja svih ovih godina su bila multidisciplinarna što je bio jedan od temelja uspjeha. U projektima koji su doveli do otkrića uzročnika BEN-a sudjelovalo je preko stotinu istraživača i suradnika raznih profesija. U periodu 2003. - 2022. godine publiciran je velik broj članaka u vodećim svjetskim časopisima s preko 1000 citata.

Otvoreno je ostalo još nekoliko pitanja o mehanizmima nastanka BEN-a, tj. AAN-a i pridruženih UUC-a. No, ostalo je otvoreno i pitanje kako to da je ubikvitarna biljka mogla dovoditi do endemske pojavnosti bolesti u ograničenim područjima, te može li se opažen pad prevalencije BEN-a, kao i pad broja bolesnika koji počinju liječenje hemodijalizom ili su operirani zbog UUC-a u slavonskobrodskoj bolnici objasniti poljoprivrednim tehnološkim unapređenjima što je bio predmet i cilj ovoga istraživanja.

1.2. Definicija Balkanske nefropatije

Balkanska nefropatija (BEN) kronična je tubulointersticijska nefropatija, ona je okolišni oblik nefropatije AA-a (AAN) s latentnim početkom i sporim napredovanjem do završnog stadija kronične bubrežne bolesti (KBB) [1]. Pojavljuje se u stanovnika određenih sela u dolinama velikih pritoka Dunava na jugoistoku Europe u području koje se politički i povijesno označava kao Balkan, a uključuje države Bosnu i Hercegovinu, Bugarsku, Hrvatsku, Rumunjsku i Srbiju (slika 1). Oboljeli od BEN-a imaju znatno veću učestalost UUC-a nego opća populacija. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) prihvatila je službeni naziv 1964. godine kada su određeni prvi dijagnostički kriteriji [2].

1.3. Epidemiologija, etiologija, klinička slika, dijagnostika i liječenje

1.3.1. Epidemiologija

Tijekom 1956. i 1957. godine u slavonskobrodskoj bolnici registriran je veći broj bolesnika iz sela zapadno od Slavonskoga Broda s KBB-om te je 1957. i 1958. godine provedeno prvo epidemiološko terensko istraživanje (tzv. perlustracija) u selima Bebrina, Slavonski Kobaš i Pričac [3]. U Hrvatskoj je BEN prvi put prepoznata 1959. godine, premda je prema crkvenim zapisima bubrežna bolest bila prisutna i prije Drugoga svjetskog rata [4]. Prvo zahvaćeno selo koje se u Hrvatskoj spominje jest Slavonski Kobaš, a bolest se u narodu zvala i „Kobaška bolest“. Prvi dokumentirani slučaj BEN-a zapis je prilikom obdukcije muškarca upravo iz sela Slavonski Kobaš koji je preminuo 1949. godine u slici uremije u Kliničkome bolničkom centru u Zagrebu, čija je majka također umrla od nefropatije [5]. Endemsko žarište u Hrvatskoj čini 14 sela smještenih zapadno od Slavonskoga Broda, južno ograničeno rijekom Savom, a sjeverno obroncima brda Dilj s populacijom od oko 10.000 stanovnika, a obuhvaća sela: Banovce, Bebrinu, Brodsku Varoš, Dubočac, Kanižu, Lužane, Malino, Pričac, Slavonski Kobaš, Slobodnicu, Stupničke Kute, Šumeće, Zbjeg i Živike (slika 1) [6]. Bosansko endemsko žarište nalazi se na sjeveroistoku države i zahvaća šest općina (Bijeljinu, Brčko, Bosanski Šamac, Orašje, Modriča, Odžak) s ugroženom populacijom od oko 400.000 stanovnika [7]. U Srbiji su dva endemska žarišta, prvo u slivu rijeke Kolubare; općina Lazarevac, koja sveukupno

broje oko 60.000 stanovnika, a od ukupno 14 endemskih sela tog područja kao najzahvaćenija navode se Šopić, Petka i Vreoci, a drugo je žarište u slivu rijeke Južne Morave od sjevera prema jugu u općini Aleksinac, Niš i Leskovac, i to u selima: Mezgraja, Donja Trnava, Nozrina, Lužane, Brestovac, Kulteš i Pukovac [8, 9]. Balkanska nefropatija registrirana je i na teritorijalnom dijelu Kosova i Metohije, u slivu rijeke Binačke Morave, u općini Vitina i okolnim selima (Gornja Morava) s epicentrom pojavnosti u selu Vrbovac. Godine 1958. registrirano je geografsko žarište BEN-a u erozivnim dolinama Karpata u jugozapadnoj Rumunjskoj u pokrajini Mehedinti i Caras–Severin [10]. U Mehedinti županiji bilo je 108 endemskih sela s ugroženom populacijom od oko 69.000 osoba, a najpoznatija su Erghevita, Bistrita, Hinova i Poroina Mare smještena u dolinama rijeka. Krajnje istočno žarište BEN-a smješteno je u sjeverozapadnom dijelu Bugarske i obuhvaća 21 selo i glavni grad istoimene pokrajine Vratza te četiri sela u susjednoj pokrajini Mihajlovgrad [11].



Slika 1. Žarišta Balkanske nefropatije u Bosni, Bugarskoj, Hrvatskoj, Rumunjskoj i Srbiji (A), i žarište u Hrvatskoj na Jelac polju zapadno od Slavonsloga Broda (B)

Na temelju provedenih istraživanja utvrđene su karakteristike bolesti, poput specifične geografske distribucije – što znači da BEN zahvaća točno određena područja uz velike pritoke Dunava, kako je prethodno navedeno, i ta se distribucija nije promijenila do danas. Sama distribucija ima karakter mozaika – uz endemska sela u neposrednoj blizini nalaze se nezahvaćena neendemska sela. Zahvaćeno je isključivo seosko stanovništvo u odrasloj dobi, bolest se pojavljuje samo u određenim kućanstvima, gdje su obolijevali članovi raznih generacija, izuzev djece, te krvni i nekrvni srodnici (tzv. crne kuće), dok su susjedna kućanstva bila posve pošteđena. To je odmah upućivalo na važnost vanjskoga etiološkog čimbenika i na to da bolest nije primarno nasljedna, iako genska predispozicija ima ulogu budući da ne obolijevaju sve osobe izložene vanjskom čimbeniku. Činjenicu da bolest nije izravno nasljedna potvrdio je tzv. prirodni pokus s Ukrajincima [12]. Ukrajinski imigranti kao i njihovi potomci koji su naselili endemska sela krajem 19-og i početkom 20-og stoljeća podjednako su obolijevali od BEN-a i UUC-a kao i autohtono stanovništvo, za razliku od njihovih rođaka ili sunarodnjaka koji su ostali živjeti u Ukrajini i imigranata koji su naselili okolna neendemska sela, što je upućivalo na ključnu važnost izloženosti okolišnom čimbeniku u endemskim selima. Uz to, BEN nije nikada evidentirana u Ukrajini. Budući da bolest nije nikad opisana u djece, nego samo u osoba starijih od 18 godina, navedeno upućuje na nužnost duge izloženosti vanjskom čimbeniku. Posebna je osobitost BEN-a vrlo velika učestalost UUC-a [13,14]. Za razliku od UUC-a u općoj populaciji, u endemskim žarištima karcinom je češći u žena. Specifični mortalitet od tih karcinoma u endemskome kraju 14 je puta veći nego u ostatku Brodsko-posavske županije, a 55 puta veći nego u drugim dijelovima Hrvatske i svijeta [13, 14]. U oboljelih od BEN-a i AAN-a, UUC se pojavljuje u 40 – 45 % slučajeva.

Prevalencija BEN-a endemskog žarišta u Hrvatskoj u razdoblju 1975. - 1991. godine bila je u prosjeku 4,4 % (0,7 % Šumeće, 8,3 % Pričac), a ako se bolesnima pridruže i sumnjivi da boluju od BEN-a, prevalencija se kretala čak do 20 % [3, 15, 16]. U razdoblju od 1980. do 1991. godine prosječna stopa prevalencije iznosila je 1,3 % s rasponom od 0,4 % do 2,3 % u pojedinim endemskim selima. Tijekom 2005., 2008. i 2010. godine terenskim istraživanjima tzv. perlustracijama provedenim u devet endemskih sela utvrđen je pad prevalencije bolesti koja se sada u prosjeku kreće oko 1 % (0,0 % do 2,3

% ovisno o endemskom selu), a sumnjivih da boluju od BEN-a 3,9 % (0,9 % do 6,5 %) [17]. Prvi put u jednome endemskom selu, u selu Dubočac, registrirana je prevalencija od 0 %, tj. nije utvrđen nijedan oboljeli od BEN-a, a istodobno nije bilo nijednog bolesnika s UUC-om. U svim recentnim istraživanjima u drugim endemskim žarištima, npr. u Srbiji, verificirana je tendencija pada prevalencije uz pomak prema starijim dobnim skupinama u kojima se pojavljuje klinički razvijena slika BEN-a što dijelom ukazuje na smanjenu izloženost stanovnika uzročnom čimbeniku [18]. U hrvatskom endemskom žarištu prosječna dob bolesnih sada je 74 godine, a sumnjivih je 60 godina što je sukladno rezultatima iz Bugarske i Srbije [17, 19, 20, 21, 22].

Balkanska nefropatija je potaknula poboljšanje uvjeta života u endemskim selima, izgradnju nasipa, drenažnih sustava na poljima – kanala i crpnih stanica, izgradnju dubokih arteških bunara, a potom i priključivanje na vodovodnu mrežu, poboljšanje sanitarnih uvjeta i unaprjeđenje poljoprivredne tehnologije. Sve manje seljaka bavi se zemljoradnjom, a promijenio se i način života stanovnika endemskih sela koji sve više nalikuje onom u gradovima. Zasigurno veliku ulogu ima korištenje zajedničkih velikih zadružnih mlinova i poboljšanje tehnologije žetve. Sve navedeno pridonijelo je smanjenoj izloženosti uzročnome čimbeniku i posljedično smanjenju incidencije bolesti. Kako bismo testirali ovu hipotezu proveli smo istraživanje na doseljenicima iz neendemskih područja Bosne i Hercegovine koji su se početkom devedesetih godina prošlog stoljeća, nakon što je došlo do znatnih i važnih promjena tehnologije žetve, doselili u endemski kraj. Istraživanje je pokazalo da u bosanskih imigranata koji u endemskom kraju borave 15 – 30 godina nema oboljelih od BEN-a [23, 24]. Učestalost tubularne proteinurije znatno je bila manja nego u autohtonog stanovništva endemskog kraja, a bez razlika u odnosu na stanovnike neendemskih sela. Taj drugi prirodni pokus s Bosancima imao je posve drugi smjer u odnosu na prvi prirodni pokus s Ukrajincima i također je porvrdio ključnu ulogu etiološkog faktora u etiologiji bolesti [12, 23].

1.3.2. Etiologija

Posljednjih šezdesetak godina intenzivno se istraživao velik broj vanjskih etioloških čimbenika za BEN, uključujući i okolišne toksine poput mikotoksina, teških metala (olova, žive, kadmija), virusa i elemenata u tragovima [8, 11, 25 - 28]. Za nijedan od navedenih potencijalnih uzročnika nije utvrđena jasna uzročno-posljedična veza s BEN-om. Dugo se tražila poveznica s okratoksinom A, mikotoksinom koji može izazvati KBB u životinja kao i karcinom bubrega [29 – 34]. No nema dokaza da taj mikotoksin izaziva toksičnu nefropatiju u ljudi. Patohistološke promjene koje izaziva u životinja ne odgovaraju promjenama u BEN-u, u životinja izaziva karcinom bubrega, ali ne UUC, što je karakteristično za BEN. Prema Međunarodnoj agenciji za istraživanje karcinoma (engl. *International Agency for Research on Cancer*, IARC) okratoksin A svrstan je u skupinu 2B što je potvrda da nema dokaza o toksičnosti/karcinogenosti u ljudi, a Europska agencija za hranu zaključila je još 2006. godine da nema dovoljno dokaza koji bi potvrdili povezanost okratoksina A i BEN-a što je potvrđeno i u njihovom izvještaju iz 2020. godine [35, 36]. Tome govori u prilog i izvještaj Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu iz 2025. godine [37].

Nefropatija aristolohične kiseline

Danas postoje neoborivi dokazi da je AA, fitotoksin iz biljke vučje stope (*Aristolochia clematitis*) glavni rizični čimbenik i uzročnik BEN-a i pridruženog UUC-a [38 – 41]. Aristolohična kiselina generički je naziv za nitrofenantrenske ugljične kiseline, kombinacija AA I i AA II koje se metaboliziraju u izloženih osoba i u većine izlučuju kao inertni neaktivni metaboliti [38, 42 - 45]. Dva su ciljna tkiva podložna djelovanju AA-a: bubrežni korteks, posebno proksimalni bubrežni tubul (nastanak intersticijske fibroze i KBB-a) te prijelazni epitel gornjeg dijela mokraćnog sustava (nastanak UUC-a) što je ujedno karakteristično i za BEN. No opažanja o povezanosti AA-a i bubrežne bolesti na ovim prostorima znatno su starija. Još je davne 1954. godine Dumić objavio svoja zapažanja o pojavi nefropatije s proteinurijom u konja uzrokovanoj trovanjem korovom vučja stopa [46]. Martinčić je na temelju kliničke slike i patohistološkog nalaza bubrega uginulih konja posumnjao da bi ista biljka mogla biti povezana s razvojem endemske nefropatije u ljudi, a ista opažanja objaavili su i veterinari u Srbiji [47, 48].

Aristolohije su višegodišnje biljke koje obuhvaćaju više od 500 različitih vrsta. Rasprostranjene su u toplim krajevima Sredozemlja, Afrike ili Azije [49 – 51]. Pripravci od biljaka roda aristolohije tisućljećima su se rabili u tradicionalnoj medicini Kine, Japana, Indije i drugih država Azije i cijelog svijeta. Peroralni unos biljnih preparata koji sadrže AA povezuje se s razvojem sindroma poznatijeg kao AAN koju karakterizira progresivno kronično bubrežno zatajenje, tubulointersticijska fibroza koja počinje od korteksa i postupno se širi prema meduli te velika učestalost UUC-a [14, 52 – 54]. Prvu poveznicu aristolohije s BEN-om u humanoj medicini opisao je profesor Milenko Ivić i objavio 1969. godine u *Liječničkom vjesniku* [55]. Doselivši se iz Vojvodine u endemsko žarište pokraj Niša, uočio je da su sjemenke korova vučje stope (*Aristolochia clematitis*) bile pomiješane zajedno sa sjemenkama pšenice i tako se zajedno mijeale i dospijevale u brašno za kruh, glavnu prehrambu namirnicu endemskih sela. Smatrao je da je kruh tih seljaka bio otrovan, što je i potvrdio *in vitro* pokus s kunićima koje je hranio brašnom dobivenim od sušenih sjemenki *Aristolochiae clematitis* [55, 56]. Histološkom analizom bubrega kunića verificirane su promjene najizrazitije u vanjskome dijelu korteksa s degenerativnim promjenama u tubulima i intersticiju uz očuvane glomerule, što potpuno odgovara promjenama karakterističnim za BEN. Nažalost ti njegovi vrijedni rezultati nisu prihvaćeni od tadašnjih znanstvenika i stručnjaka. Stoga je hipoteza o *Aristolochia clematitis* kao potencijalnog uzročnika BEN-a bila posve zanemarena sljedećih tridesetak godina. Vanherweghem je 1993. godine opisao slučajeve akutnoga bubrežnog oštećenja koje je vrlo brzo progrediralo u terminalni stadij KBB-a u stotinjak mladih, do tada zdravih, belgijskih žena koje su u jednoj eminentnoj belgijskoj klinici uzimale preparate za mršavljenje [57]. U do tada dobro etabliranu formulu biljnog pripravka dodan je pripravak *Magnoliae officinalis* i *Stephaniae tetrandrae*, biljke koja ima diuretska svojstva, što je poželjno za brz gubitak tjelesne mase. No dokazano je kako je došlo do zamjene biljke *Stephania tetrandra* biljkom *Aristolochia fangchi* zbog nedovoljnog poznavanja kineske farmakopeje i slučajne zamjene zbog sličnosti kineskoga imena (*A. fangchi* - *Guang Fang Ji* vs. *S. Tetrandra* - *Han Fang Ji*). Tako je nedužna biljka koja ima diuretska svojstva zamijenjena izrazito nefrotoksičnom i kancerogenom biljkom. Od bolesnica u kojih je bubrežno zatajenje progrediralo u terminalnu fazu više od 40 % imalo je i pridruženi UUC

[53]. Nisu sve izložene žene oboljele, nego njih oko 5 %, što odgovara ranijoj prevalenciji BEN-a i upućuje na isti genski polimorfizam. Hipoteza o *Aristolochia spp.* kao uzročnom nefrotoksinu i karcinogenu u tih bolesnica definitivno je potvrđena fitokemijskom analizom i dokazom AA-a u uzorcima praha „*Stephania tetrandra*“ u belgijskim ljekarnama, dokazom aristolaktamskih adukata DNA u tkivu bubrega i karcinomima urotela u izloženih bolesnica, te konačno na eksperimentalnom animalnom modelu. Cosyns i suradnici prvi su uočili podudarnost patohistološkoga nalaza bolesnica oboljelih od nefropatije kineskih trava i bolesnika s BEN-om: hipocelularnost, smanjivanje intenziteta intersticijske fibroze i drugih promjena tubula od korteksa prema meduli uz očuvane glomerule [52]. Takav obrazac prisutan je i u kadmijskoj nefropatiji, kroničnom otrovanju olovom i kroničnoj nefropatiji presatka. No jedino u nefropatiji kineskih trava, tj. u AAN-u i BEN-u uz bubrežno oštećenje tubularnoga tipa, patohistološki nalaz tkiva bubrega te povezanost s inače rijetkim UUC-om pobudili su sumnju na to da su nefropatija kineskih trava i BEN uzrokovane istim uzročnikom. Navedena belgijska istraživanja oživjela su staru i prethodno neopravdano odbačenu Ivićevu hipotezu o *Aristolochia clematitis* kao uzročniku BEN-a i potaknuli naša istraživanja koja smo proveli u suradnji s međunarodnim timom stručnjaka koje je predvodio profesor Grollman, a uključio se i profesor Nikolić iz Beograda. Ta istraživanja dokazala su da je AA uzročnik BEN-a u Hrvatskoj, Bosni i Srbiji [40, 41] što je kasnije potvrđeno i u Rumunjskoj [58]. Vodeća hipoteza bila je da je kronični unos niskih doza AA-a u genski predisponiranih osoba glavni razlog i objašnjenje svih epidemioloških i kliničkih karakteristika BEN-a. U Hrvatskoj je provedeno nekoliko „*case control*“ epidemioloških istraživanja u koja su bili uključeni stanovnici nekolicine endemskih sela i kontrolnih obližnjih neendemskih sela [23, 59]. Dokazali smo da su bolesnici s BEN-om imali znatno veću vjerojatnost izloženosti AA-u. Oboljeli su češće viđali biljku *Aristolochia clematitis* u svojim poljima te njezine sjemenke među sjemenkama pšenice tijekom žetve (slika 2). Pretpostavljeni put unosa AA-a u organizam je kontaminacija pšenice sjemenkama *Aristolochia clematitis* te posljedično brašna korištenog za pripremu kruha, nekada, a dobrim dijelom i sada, glavne prehrambene namirnice u endemskom kraju (slika 3). Izračunata kumulativna doza AA-a unesena tijekom 15 godina, koja se pokazala dostatnom za razvoj tubulointersticijske nefropatije i

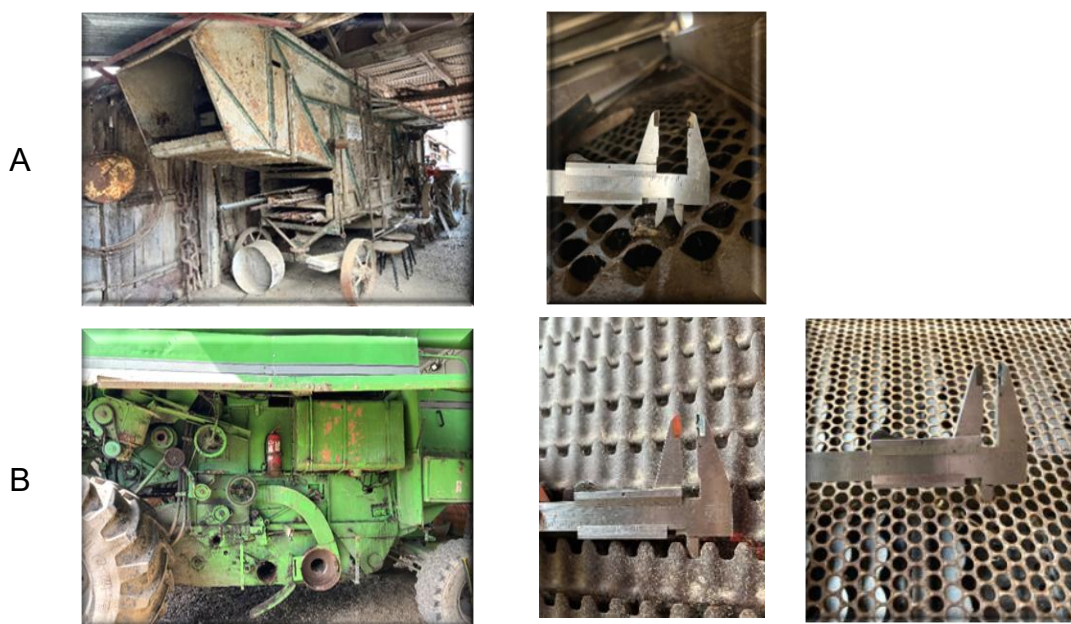
UUC-a, bila je dnevni unos 1/2 kg kruha pripremljenog od brašna kontaminiranog samo jednom sjemenkom *Aristolochia clematitis* [60]. Dakle, bolesnici s BEN-om obolijevali su jedući kontaminirani kruh za razliku od ijtrogenog oblika AAN-a koji je opisan u Belgiji, Tajvanu i mnogim drugim državama svijeta. Naravno, postavljalo se pitanje da li je to jedini put unosa AA-a u bolesnika s BEN-om [61- 63]. Dodatno su određeni biomarkeri izloženosti AA-u određivanjem kovalentno vezanih adukata metabolita AA-a: detektirani su dA-aristolaktam (dA-AL) i dG-aristolaktam (dG-AL) adukti u bubrežnom korteksu bolesnika s BEN-om i tkivu UUC-a bolesnika iz endemskih krajeva [40, 64]. Navedeni kovalentno vezani AA-DNA adukti kao doživotni biljeg prethodne izloženosti AA-u nađeni su u bolesnika iz endemskih sela Hrvatske, Bosne i Srbije, a adukti nisu nađeni ni u kojeg bolesnika iz kontrolne skupine. Sljedeći ključni dokaz da AA izaziva BEN i UUC jest nalaz tipične mutacije onkosupresora Tp53, tj. transverzija A-T-a u T-A. Ta mutacija nađena je u mnoštvu staničnih modela i u bolesnika s AAN-om. Prema IARC učestalost te mutacije u svijetu iznosi oko 5 %, dok je u bolesnika s BEN-om oko 70 % [65]. Ti rezultati kasnije su dokazani i u Rumunjskoj od druge skupine istraživača, a njihov nalaz promjena/mutacija DNA-a u bolesnika s Balkana koji su imali BEN i u bolesnika s Tajvana koji su imali jatrogeni AAN potvrdio je da je riječ o jednoj bolesti s različitim kliničko-epidemiološkim obilježjima [41, 65]. Konačnom potvrdom može se smatrati masenom spektrometrijom kemijski dokaza da su aristolaktamski adukti prisutni u preparatu bolesnika iz hrvatskoga žarišta sadrže AA nakon čega je de Broe naglasio da više nema sumnje da su BEN i nefropatija kineskih trava jedna bolest koju treba zvati istim imenom-AAN [66]. Dodatno je istraživana i genska predispozicija te nasljedni čimbenici odgovorni za pojavu BEN-a s obzirom na to da se tek u manjeg broja izloženih pojavljuje nefropatija i/ili UUC, a druge izložene osobe ostaju nezahvaćeni. Podudarnost između belgijskih i balkanskih bolesnika očitovala se u jednakoj učestalosti obolijevanja izloženih osoba koja iznosi oko 5 % izloženih osoba što ukazuje da su isti polimorfizmi i/ili mutacije bilo na genima za metabolizam AA-a bilo na genima uključenim u reparaciju DNA-a prisutni u objema kohortama bolesnika što je potvrđeno u bolesnika s Tajvana liječenih pripravcima tradicionalne kineske medicine koji su sadržavali AA [65]. Svi ti rezultati nedvojbeno potvrđuju da je AA glavni čimbenik rizika i uzročnik BEN-a i udruženih UUC-a u genski

predisponiranih osoba izloženih AA-u uz unos hranom, tj. kruhom. Također je uočeno da izloženost AA-u u bolesnika s BEN-om iz Bosne, Hrvatske i Rumunjske nije bila povezana samo s UUC-om nego i karcinomima bubrežnih stanica [67]. Karakteristike AAN-e prikazane su u tablici 1. Često se postavljalo pitanje kako objasniti da ubikvitarna biljka kao što je *Aristolochia clematitis* uzrokuje bolest koja je opisivana kao endemska. Dio odgovora donosi ovo istraživanje i ova disertacija, a dio odgovora prikazan je u nedavno objavljenom radu Brzića i suradnika gdje je nađeno da geografska incidencija BN-a odgovara geografskoj rasprostranjenosti *Aristolochia clematitis* [68]. Biljka se u raznim regijama Europe koje su analizirane u tom istraživanju najčešće nalazi u šumama, a rjeđe u prostorima koje su oblikovali ljudi. Na Balkanu biljka ne raste češće nego u drugim regijama Europe, ali zanimljivo je da se ona ovdje češće nalazi u prostorima koje su ljudi stvorili i koriste kao što su polja, njive, livade. Taj ekološki obrazac rasta povećava vjerojatnost kontakta i izloženosti toj fitotoksičnoj biljci u ovom dijelu Europe u odnosu na ostale krajeve. Sličan obrazac rasta biljke opažen je u Italiji, no u tim krajevima nije uočena veća učestalost KBB-a i/ili UUC-a, što se može objasniti razlikama u načinu žetve te ranije primjene uznapredovale tehnologije mljevenja i/ili korištenje zajedničkih mlinova [69]. Sličan je obrazac opažen i u južnom dijelu Ukrajine, ali ni tamo nije opažena veća učestalost KBB-a i/ili UUC-a. Zanimljivo, u sjevernom dijelu Ukrajine, odakle se u Hrvatsku prije stotinjak godina doselio najveći broj imigranata, biljka *Aristolochia clematitis* nije toliko često prisutna [68]. Razlika u zemljoradničkoj tehnologiji sigurno je jedno je od objašnjenja zbog čega je bolest učestalija u ovim dijelovima Balkana. Ubikvitarna biljka kao što je *Aristolochia clematitis* može uzrokovati KBB kao što je BEN i/ili UUC i izvan područja koja su označena kao endemska i u kojima biljka raste češće u obrađenim prostorima. To su tzv. sporadični oblici BEN-a, a mi smo u nekoliko naših bolesnika iz Hrvatske i Bosne to dokazali određivanjem prisutnosti adukata AA-a i tipične mutacije na onkosupresoru Tp53 [70,71].



Slika 2. Vučja stopa (*Aristolochia clematitis*) u polju pšenice za vrijeme žetve te među zrnima pšenice (fotografija: Ivan Brzić, srpanj 2021.)

Slika 2. prikazuje mogućnost onečišćenja požnjevenog zrna primjesama korovnih i potencijalno toksičnih biljnih vrsta već u fazi žetve. Prisutnost sjemenki i biljnih dijelova vučje stope u žitnoj masi predstavlja ozbiljan kvalitativni i zdravstveni problem, zbog čega je njihovo pravodobno prepoznavanje i izdvajanje od osobite važnosti u postupcima čišćenja, separacije i dorade pšenice prije mljevenja.



Slika 3. Razlike u starom (A) i novom (B) načinu separacija/odvajanja te razlike u veličini otvora na separatorima (fotografija Ivan Brzić, ljeto 2021.)

Slika 3. Usporedba starog (A) i novog (B) sustava separacije materijala, s naglaskom na razlike u veličini otvora na separatorima. U starome sustavu otvori su bili veći, pa je proces odvajanja bio manje precizan i prikladniji za grublju separaciju. U novom sustavu primjenjuju se manji otvori i gušći raspored perforacija, čime se postiže veća preciznost u odvajanju čestica prema veličini. Time se osigurava bolja ujednačenost izdvojenog materijala, veća učinkovitost procesa te viša kvaliteta konačnog proizvoda. Poljoprivredno-tehnološki dio detaljnije je opisan kasnije u tekstu.

Tablica 1. Karakteristike nefropatije kineskih trava i Balkanske nefropatije dva oblika nefropatije aristolohične kiseline

	Nefropatija kineskih trava	Balkanska nefropatija
<i>Etiologija</i>		
	aristolohična kiselina	aristolohična kiselina
<i>patohistološki nalaz</i>		
<i>Izgled bubrega</i>	smanjeni, nepravilnih kontura, bez kalcifikata	smanjeni, glatke površine, bez kalcifikata
<i>Histologija</i>		
Stanična infiltracija	+	+
Fibroza	++	++
Atrofija	++	+++
Kapilaroskleroza	+	+
Apoptoza	++	++
Karcinomi UUC	+	+
Učestalost	44 %	30 % - 50 %
<i>Epidemiološka obilježja</i>		
<i>Obiteljsko pojavljivanje</i>	-	+
<i>Spol</i>	češće žene*	nema razlika
<i>Svjesnost o toksičnosti biljke</i>	slučajan unos	nema svjesnosti
<i>Put unosa toksina</i>	biljni pripravci za mršavljenje	kruh pripremljen u vlastitu domaćinstvu
<i>Prevalencija bolesnih u izloženoj populaciji</i>	2 % - 5 %	3 % - 5 %
<i>Klinička slika</i>		
<i>Klinički tijek**</i>	brzo progresivan to terminalnih stadija kronične bubrežne bolesti	podmukao početak i spora dugogodišnja progresija
<i>Vrijeme do razvoja terminalnog bubrežnog zatajenja</i>	6 mjeseci do 2 godine	od 15 do 20 godina
<i>Arterijski tlak</i>	na početku normalan, povišen tek u uznapredovalim stadijima KBB	na početku normalan, povišen tek u uznapredovalim stadijima KBB-a
<i>Anemija</i>	izraženija od očekivanog prema stadiju KBB	
<i>Aseptička leukociturija</i>	+	+
<i>Tubularna proteinurija i enzimurija</i>	+	+

KBB = kronična bubrežna bolest; * U belgijskoj kohorti žene su češće bile izložene jer su češće odlazile na liječenje debljine; ** Klinički tijek ovisan je o dozi. U Belgiji, ali i u drugim slučajevima opisanim diljem svijeta oboljeli su u kratkom razdoblju unijeli veliku količinu toksina, dok su bolesnici s BEN-om godinama unosili male količine svakodnevno.

1.3.3. Laboratorijske karakteristike Balkanske nefropatije

Prvi znak oštećenja bubrega, budući da egzotoksin primarno zahvaća proksimalni tubul, laboratorijski se očituje *tubularnom proteinurijom* koja je u uznapredovalim stadijima obično manja od 1g/L. Značajka te proteinurije jest proteinurija male molekularne mase, obično udružena s tubularnom enzimurijom. Danas se najpouzdanijim biljegom tubularne proteinurije i prihvaćenim od KDIGO-a 2012 smatra α 1mikroglobulin (α 1m), uz graničnu vrijednost α 1mCR od 31,5 mg/g kreatinina u urinu s osjetljivošću od 96,3 % i specifičnošću

od 94,05 % za dijagnosticiranje BEN-a [72-77]. No on također nije patognomoničan jer je povišen i kod drugih stanja gdje dolazi do oštećenja proksimalnog tubula poput trovanja teškim metalima, u arterijskoj hipertenziji, mutliplom mijelomu. Albuminurija se ne uzima u obzir zasebno u smjernicama za dijagnosticiranje BEN-a, nego omjer α 1mg/albumin koji pomaže u diferencijaciji glomerularne i tubularne proteinurije. U kasnoj fazi bolesti, kad su sekundarno zahvaćeni i glomeruli, pojavljuje se miješana tubularna i glomerularna proteinurija. Sediment urina nespecifičan je, može se naći aseptička leukociturija, eritrociturija i cilindurija uz sniženu relativnu masu volumena urina što upućuje na smanjenu sposobnost koncentriranja urina zbog tubularnoga oštećenja. Urinokultura je sterilna. Atipične stanice u citologiji urina mogu se naći ako je nefropatiji pridružen UUC. Glomerularna filtracija dugo ostaje normalna. Normocitna i normokromna anemija pojavljuje se relativno rano u tijeku bolesti i obično je izraženija nego što bi odgovaralo stupnju bubrežnoga zatajenja. U ranoj fazi bolesti ultrazvučno su bubrezi normalni, a u uznapredovanoj fazi bubrezi su mali i odgovaraju KBB-u.

1.3.4. Postavljanje dijagnoze i klasifikacija Balkanske nefropatije

Dijagnoza BEN-a još se ne postavlja na temelju određenog specifičnog ili patognomoničnog biljega. Tijekom proteklih desetljeća nisu se u svim žarištima BEN-a primjenjivali jednaki kriteriji. To je dovelo do vrlo različitih i neusporedivih epidemioloških podataka o incidenciji i prevalenciji bolesti, a 1964. godine na sastanku u Dubrovniku pod pokroviteljstvom SZO-a usvojeni su prvi dijagnostički kriteriji [2]. U hrvatskome endemskom žarištu od 1980. godine primijenjena je modificirana klasifikacija SZO-a, no kako su u drugim endemskim žarištima primijenjeni različiti kriteriji, u Bosni i Hercegovini i Srbiji uglavnom tzv. Danilovićeve kriteriji, rezultati iz različitih endemskih žarišta i dalje nisu mogli biti međusobno usporedivi što je znatno otežavalo procjenu stvarnog stanja te procjenu kretanja bolesti u budućnosti [77]. Zbog toga je tijekom Međunarodnog simpozija o BEN-u održanog na otoku Braču 2008. godine osnovana radna skupina koju su činili vodeći stručnjaci koji se bave BEN-om/AAN-om čiji je cilj bio donijeti smjernice za probir, dijagnostiku i liječenje BEN-a. Jelaković i suradnici 2014. godine objavili su dokument koji predstavlja ažurirane preporuke razvijene tijekom Međunarodne radionice o

dijagnostičkim kriterijima BEN-a održane na Braču 2008. godine s ciljem izjednačavanja kriterija probira, dijagnoze i liječenja BEN-a u svim endemskim žarištima na temelju ekspertnog mišljenja radne skupine stručnjaka iz različitih područja medicine (javno zdravstvo, nefrologija, urologija, epidemiologija, radiologija, patologija, onkologija...) [76]. Konsenzus je obuhvaćao sve recentne spoznaje i dogovorene su sljedeće definicije: (i) tubularna proteinurija definirana je kao $\alpha 1\text{MCR} > 31,5 \text{ mg/g}$ uz omjer $\alpha 1$ -mikroglobulina i albumina u urinu ($\alpha 1\text{m/UAC}$) $\geq 0,91$ u bolesnika s prisutnom albuminurijom; (ii) anemija je definirana kao $\text{Hb} < 120 \text{ g/L}$ u muškaraca i žena starijih od 50 godina odnosno $< 110 \text{ g/L}$ u žena mlađih od 50 godina; (iii) za procjenu bubrežne funkcije ne koriste se više vrijednosti serumskoga kreatinina, nego procijenjena glomerularna filtracija (eGFR) pomoću CKD EPI formule prema KDIGO smjernicama iz 2012. godine [75]; (iv) sporadični slučajevi BEN-a: bolesnici u kojih ne postoji alternativno objašnjenje za njihovu KBB ili bolesnici s UUC-om koji žive u poljoprivrednim selima izvan endemskih regija koje nisu ograničene samo na regiju Balkana, zatim članovi obitelji oboljelih kao sporadični slučajevi, bolesnici s BEN-om koji su na dijalizi u neendemskim dijaliznim jedinicama i transplantirani bolesnici s BEN-om koji žive u neendemskim područjima (emigranti). Određeni su elementi za postavljanje dijagnoze BEN-a: (i) dokaz da je oštećenje proksimalnog tubula dominantno obilježje; (ii) anemija prilagođena dobi i spolu uz isključivanje drugih uzroka anemije; (iii) isključiti ostale KBB-ove; (iv) biopsiju bubrega treba razmotriti u bolesnika kod kojih postoji preklapanje s drugim KBB-ovima i u onih u kojih se sumnja da imaju „sporadičnu BEN“. Potrebno je isključiti izloženost okolišnim nefrotoksinima osim AA-a. Prema tzv. Bračkoj klasifikaciji primjenjujemo drugačije kriterije i granične vrijednosti nego prije (tablica 2).

Tablica 2. „Bračka klasifikacija“ Balkanske nefropatije

<u>Bolesni</u> patohistološki nalaz bioptata bubrega sugestivan za BEN ¹ boravak u endemskom kućanstvu > 20 godina + tubularna proteinurija ² + snižen eGFR ³ + anemija ⁴ boravak u endemskom selu >20 godina + UUC ⁵ + tubularna proteinurija ²	<u>Sumnjivi da boluju</u> boravak u endemskom kućanstvu > 20 godina + snižen eGFR ³ + anemija ⁴ boravak u endemskom kućanstvu >20 godina + tubularna proteinurija ² boravak u endemskom selu > 20godina + UUC ⁵
<u>Pod rizikom da će oboljeti – „rizični“</u> boravak u endemskom selu > 20 godina boravak u kućanstvu sa sporadičnom BEN-om >20 godina	<u>Sporadična BEN ⁶</u> patohistološki nalaz bioptata bubrega sugestivan za BEN u bolesnika ili članova kućanstva s UUC izvan endemskog sela

¹ Nema patognomoničnih patohistoloških značajki za BEN, ali karakteristična patohistološka slika u odsutnosti druge bubrežne bolesti visoko je sugestivna za BEN; prisutnost AA-DNA adukata i karakteristične p53 mutacije su dijagnostičke; ² α -1MCR>31,5 mg/g i α -1/UAC $\geq$ 0,91; ³ eGFR (CKD EPI 2009) <60 mL/min/1,73 m²; ⁴ Hb < 120 g/L za muškarce i žene starije od 50 g odnosno <110 g/L za žene < 50 godina; ⁵ karcinom urotela gornjeg dijela mokraćnog sustava; ⁶ bolesnici s kroničnom tubulointersticijskom nefropatijom u kojih su isključeni drugi mogući uzroci (refluksna nefropatija, kronični pijelonefritis, rekurentni pijelonefritis, hipertenzivna nefroskleroza, izloženost olovu, kadmiju, biljnim pripravcima u kojima ima AA, ifosfamid, ciklosporinu, pamindronatu, litiju, nitrozoureji, abuzus nesteroidnih antireumatika), prema Jelaković, B. i sur. 2014. [76].

1.3.5. Klinička slika

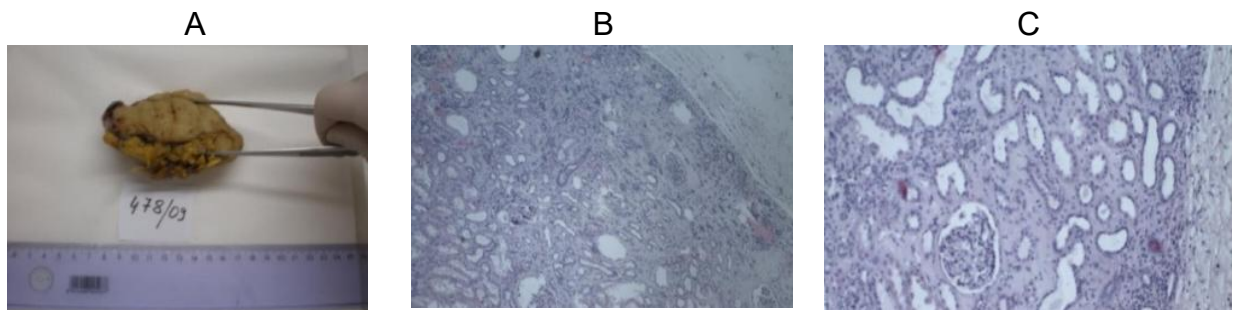
Balkanska nefropatija, kronična tubulointersticijska bolest sporo je progresivna KBB karakterizirana podmuklim početnim i postupnim napredovanjem tako da se u većine bolesnika u pravilu manifestira u uznapredovanom stadiju bubrežne bolesti. Prvi je znak oštećenja bubrežne funkcije poremećaj koncentriranja urina, a glomerularna funkcija dugo je normalna. Nakon početne asimptomatske faze bolesnici navode slabost uz bolove u lumbalnim regijama, prisutno je bljedilo kože i sluznica kao posljedica anemije. Karakteristična za BEN je normocitna normokromna anemija koja je izraženija nego što bi odgovaralo stadiju KBB-a, a u bolesnika u terminalnoj uremiji koji se liječe bubrežnom nadomjesnom terapijom zahtijeva veće doze eritropoetina. Umor, glavobolja, mršavljenje, poliurija i nikturija kao odraz tubularnog oštećenja pojavljuju se kako bolest progredira prema terminalnom stadiju. Karakterističan je izostanak arterijske hipertenzije (AH) i edema u ranoj fazi bolesti. Arterijski tlak (AT) u početku je normalan, a raste tek u uznapredovanim stadijima KBB-a. Niži AT i manja učestalost AH-a u oboljelih od BEN-a

povezani su s tubulopatijom, tj. gubitkom natrija jer BEN jest tzv. „salt wasting nephropathy“. Bolesnici s BEN-om ne samo da kasnije razvijaju AH nego je ona blažeg oblika i zahtijeva manji broj antihipertenzivnih lijekova u odnosu na AH u drugih bolesnika s KBB-om. U usporedbi s bolesnicima s KBB-om drugih etiologija, niže vrijednosti AT-a i vjerojatno razlike u metabolizmu kalcija i fosfora povezane su sa sporijim vaskularnim starenjem u bolesnika s BEN-om, što je dokazano sporijom brzinom pulsnog vala (engl. pulse wave velocity, PWV) u bolesnika s BEN-om [78]. To su razlozi zbog kojih su kardiovaskularni morbiditet (KV) i mortalitet znatno manji u bolesnika s BEN-om u odnosu na bolesnike s drugim KBB-ovima. Promjene na telomerama povezane s AA-om nedavno su raspravljane kao moguće objašnjenje s jedne strane manjeg KV rizika, a s druge strane povećanog rizika za nastanak karcinoma [79]. Nedavna istraživanja koja su pokazala da je prevalencija AH-e i KBB-e u endemskom područjima jednaka, čak nešto veća nego u ostalim ruralnim krajevima, mogu na prvi pogled proturječiti navedenome [80, 81]. No treba istaknuti da su ta istraživanja provedena u vrijeme kada više nema ili je manja izloženost AA-u, tj. kada BEN polagano nestaje, a nažalost loše životne navike danas mijenjaju seosko stanovništvo koje je manje fizički aktivno i ima veću učestalost pretilosti, ali i znatno veću prosječnu dob nego što je imalo prije četrdesetak godina.

Istraživanja provedena na prijelazu stoljeća ustanovila su pomak pojave kliničke slike BEN-a prema starijim dobnim skupinama, što ukazuje na smanjenje izloženosti stanovnika uzročnom čimbeniku [17-21, 82] Tako se u hrvatskom endemskom žarištu prosječna dob bolesnika povećala na oko 74 godine, dok se u onih u kojih se sumnja na bolest pomaknula na dob od oko 60 godina. Pomak prema starijim dobnim skupinama vidljiv je i prema dobi bolesnika koji su u posljednjih desetak godina započeli liječenje hemodijalizom u slavonskobrodskoj bolnici. Edemi su prisutni tek u uznapredovanim stadijima zbog zadržavanja vode i natrija. U terminalnoj fazi prisutni su uobičajeni simptomi uremije.

1.3.6. Patohistološki nalaz

Karakterističan histološki nalaz za BEN jest nalaz izrazite hipocelularne fibroze intersticija s tubularnom atrofijom koja je izraženija u površinskim slojevima korteksa, a manje izražena u unutarnjim dijelovima korteksa i meduli. U ranom stadiju bolesti promjene u intersticiju mogu biti multifokalne sa zahvaćanjem većeg dijela površinskog korteksa uz edem intersticija, hipocelularne kronične infiltrate i degeneraciju epitelnih stanica proksimalnog tubula s blagim glomerularnim i vaskularnim promjenama, dok se u uznapredovaloj fazi pojavljuje periglomerularna fibroza i sekundarna skleroza glomerula najizraženija u površinskim dijelovima korteksa. U završnoj fazi bubrezi su iznimno mali, simetrično skupljeni i teže samo 20 - 30 grama, a svaki ima glatke obrise. Iako je potrebno isključiti sve potencijalne uzroke intersticijske fibroze na osnovi morfoloških i kliničkih nalaza, taj se tip hipocelularne fibroze s kortikomedularnim gradijentom širenja ne nalazi u najčešćim uzrocima terminalnog bubrežnog oštećenja kao što je nefroskleroza, kronični pijelonefritis ili refluksna nefropatija i kronični glomerulonefritis.



Slika 4. Patohistološki prikaz bubrega bolesnika s BEN-om iz sela Kaniža (ljubaznošću dr. Karle Tomić)

Na slici 4 prikazane su makroskopske i mikroskopske promjene bubrega bolesnika s BEN-om iz hrvatskoga žarišta, pri čemu slike A, B i C prikazuju različite morfološke značajke bolesti: A. Makroskopski izgled bubrega bolesnika s BEN-om iz sela Kaniže: mali bubreg; dužina 7 cm, težina 26 g, glatke površine; B. Mikroskopski nalaz, bojenje HE: smanjenje intersticijske fibroze i tubularne atrofije od vanjskog korteksa prema unutarnjem; C. Mikroskopski nalaz; bojenje HE; intersticijska fibroza i tubularna atrofija s pošteđenim glomerulima.

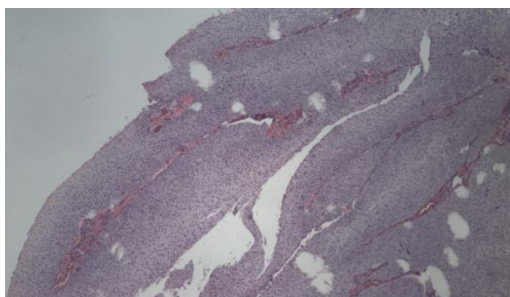
1.3.7. Karcinomi prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava

Druga važnost kliničke slike BEN-a jest česta pojava UUC-a koji je ujedno i najčešći uzrok smrti u toj skupini bolesnika [13, 83-87]. Obično se pojavljuju desetak godina nakon pojave KBB-a, iako rijetko mogu i prethoditi nefropatiji. Najčešće se pojavljuju unilateralno, klinički se očituju bezbolnom hematurijom te su česti recidivi. U endemskim žarištima UUC čine 60-80 % svih zloćudnih tumora bubrega u odrasloj dobi, češće su prisutni u osoba ženskog spola ($M : F = 1 : 1,8$) i u starijoj dobi naspram bolesnika iz područja bez BEN-a (slika 6) [13, 84]. U usporedbi s neendemskim područjima tumori iz endemskih područja češće su bilateralni i multifokalni (metakroni/sinkroni). Većina dosadašnjih istraživanja nije potvrdila znatnije razlike u gradusu tumora ili invazivnosti UUC naspram bolesnika iz neendemskih područja. U hrvatskome endemskom području specifični mortalitet od UUC-a 14 je puta veći nego u ostatku Brodsko-posavske županije, a 55 puta veći nego u ostatku Hrvatske [13, 88]. U bolesnika iz endemskih područja UUC se mogu pojaviti uz prisutnost BEN-a, ali i bez znakova bubrežnog oštećenja ili prisutnosti kliničkih parametara koji bi upućivali na istodobnu prisutnost tubulointersticijske nefropatije [89]. Sumnjive osobe i članove BEN kućanstva bez znakova oštećenja proksimalnog tubula ili UUC-a treba pratiti svakih godinu dana. Zbog velike učestalosti UUC-a također prema konsenzusnom dokumentu stav je da bolesnicima s BEN-om prije transplantacije bubrega mora biti učinjena binefektomija. Slika 5 prikazuje makroskopske fotografije bubrega s tumorom pijelona i zahvaćenim ureterom, a slika 6 prikazuje histološki izgled papilarnog urotelnog karcinoma niskog i visokog gradusa.

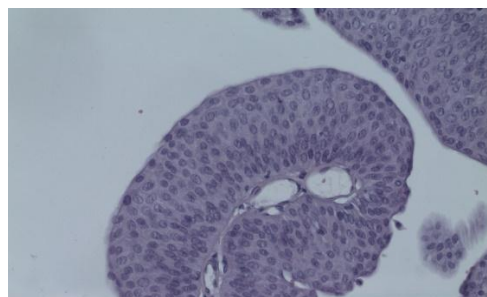


Slika 5. Bubrež s tumorom u pijelonu (lijevo) i ureteru (desno) – bolesnik iz hrvatskoga endemskog žarišta (ljubaznošću dr. Karle Tomić)

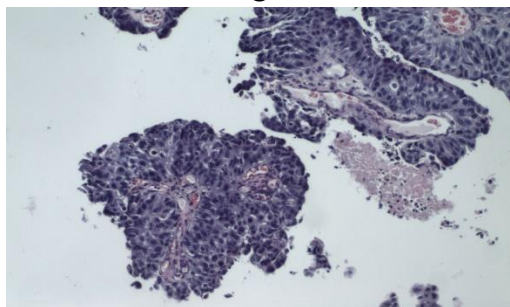
A



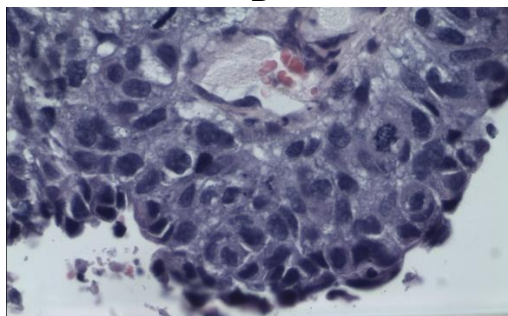
B



C



D



Slika 6. Histološki izgled papilarnog urotelnog karcinoma niskog gradusa, 6A-HEX40; 6B-HEX200 (A i B); histološka slika papilarnog urotelnog karcinoma visokog gradusa, 7A-HEX100; 7B-HEX400 (C i D). (ljubaznošću dr. Karle Tomić)

1.3.8. Liječenje

Kao i u većine kroničnih toksičnih tubulointersticijskih nefropatija tako ni u bolesnika s BEN-om nema specifičnog liječenja. Ključna je prevencija, prekid izloženosti etiološkom faktoru i edukacija stanovnika endemskih sela s obzirom na to da bolest ima podmakao tijek koji vodi do završnog stadija KBB-a uz povećan rizik od UUC-a. Stoga stanovnike endemskih sela treba poticati na sudjelovanje u programima probira i redovito posjećivanje lokalnih nefrologa s ciljem rane dijagnoze koja je ključna. Nužne i nepohodne su i mjere sekundarne prevencije čimbenika rizika koje obuhvaćaju strogu kontrolu AT-a, glikemije, tjelesne mase i lipidnog profila primjenom primarno kardioresprotektivnih lijekova. U terminalnom stadiju KBB-a započinje se s različitim vrstama nadomještanja bubrežne funkcije od hemodijalize, peritonejske dijalize do transplantacije bubrega. Bolest se ne ponavlja nakon transplantacije bubrega, no kako je prethodno navedeno, zbog povećanog rizika od UUC-a kao preventivna mjera indicirana je bilateralna nefroureterektomija u bolesnika mlađih od 65 godina [76]. U bolesnika starijih od 65 godina bilateralna nefroureterektomija učini se ako je prisutna dijagnoza UUC-a i /ili pozitivna obiteljska anamneza za BEN/UUC uz imunosupresivnu terapiju m-TOR inhibitorima. Općenito, rizik od razvoja karcinoma trinaest je puta veći u bolesnika s transplantiranim organom nego u općoj populaciji i deset puta veći nego u hemodijaliziranih bolesnika [76, 90]. Dakle, prema konsenzusnom dokumentu ključno je isključiti prisutnost UUC-a, a u slučaju živog donora indicirana je dodatna obrada poput biopsije bubrega ako je donor živio u području BEN-a više od petnaest godina zbog isključenja BEN-a i/ili prisutnosti adukata AA-DNA-a.

1.4. Rasprostranjenost biljke *Aristolochia clematitis* i poljoprivredno-mlinarska tehnologija



Slika 7. *Aristolochia clematitis* u žitnom polju sa zrelim plodovima u vrijeme žetve (fotografija Ivan Brzić, ljeto 2022.)

Aristolochia clematitis poznata pod brojnim narodnim nazivima kao što su vučja stopa, velčec, divja jabuka, vučja jabuka, kokotinja, jabučnjak, popova muda i drugi, višegodišnja je zeljasta biljka iz porodice Aristolochiaceae (slika 7) [91]. Prepoznatljiva je po svojoj dugoj tradiciji u narodnoj medicini, no suvremena istraživanja ukazuju na izrazitu toksičnost svih dijelova biljke [92, 93]. Glavni spojevi odgovorni za toksičnost su AA, koje su dokazano nefrotoksične, mutagene i kancerogene, a njihova prisutnost povezuje se s pojavom BEN-a i UUC-a [40, 94].

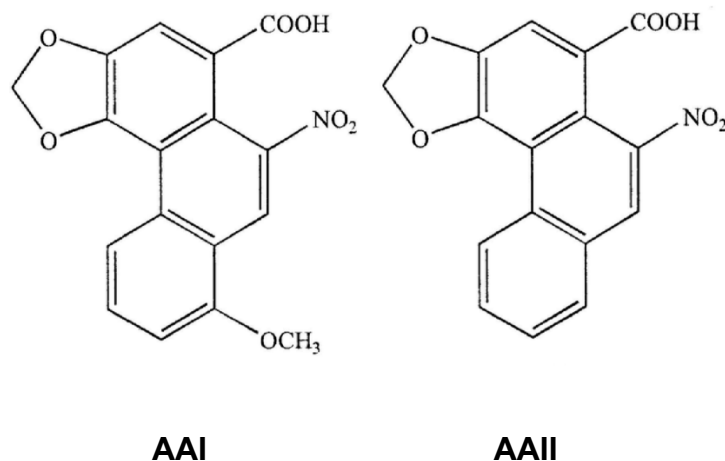
1.4.1. Botanički opis i rasprostranjenost

Aristolochia clematitis je hemikriptofit s razgranjenim člankovitim podankom iz kojeg izrasta uspravna, žutozelena stabljika visine 25 – 100 cm. Listovi su trokutasto

jajasti, srcolike baze, tupi na vrhu i smješteni na dugim peteljka. Cvjetovi su svjetložuti, skupljeni u čuperke od 2 – 8 cvjetova smještenih u pazušcima listova. Perigon je trbušasto proširen u donjem dijelu i produžen u jezičasti nastavak. Plod je kuglast tobolac veličine oraha koji sadrži brojne trokutaste, spljoštene sjemenke [92, 93]. Rasprostranjena je od južne Europe do Male Azije i Kavkaza, s vremenom se proširila i u središnju i istočnu Europu. U Hrvatskoj je česta u nizinskim dijelovima te duž Jadranske obale, dok je znatno rjeđa u planinskim predjelima Gorskoga kotara, Like i Velebita [68, 95, 96, 97]. Staništa uključuju topla, osunčana tla bogata hranjivima, poput svijetlih poplavnih šuma, obala rijeka, pustara, vinograda i prometnih nasipa.

1.4.2. Kemijski sastav i toksikologija

Najvažniji kemijski spojevi u *Aristolochia clematitis* su aristolohične kiseline (AA), naročito AAI i AAII, koje spadaju u skupinu nitrofenantrenskih karboksilnih kiselina (Slika 8.). Aristolohična kiselina I najpotentniji je nefrotoksin među njima, djeluje tako što inducira oksidativni stres i stvara DNA adukte koji uzrokuju mutacije u genima uključenima u kontrolu staničnog ciklusa [40, 98]. Aristolohična kiselina II posjeduje sličnu strukturu, ali slabiji toksični potencijal. Obje kiseline povezane su s razvojem AAN-a, BEN-a i UUC-a [94, 99].



Slika 8. Kemijska struktura aristolohičnih kiselina AAI i AA II

Pored AA-a, identificirani su i aristolaktami, uključujući aristolaktam I i II, koji predstavljaju reducirane derivate AA-ova koji sudjeluju u stvaranju DNA adukata [99]. Biljka sadrži i druge sekundarne metabolite: alkaloida (s izraženim biološkim, ali slabo istraženim svojstvima), flavonoide poput kemferola i kvercetina, eterična ulja bogata hlapljivim spojevima poput limonena i β -kariofilena, taninsku i jabučnu kiselinu te smole lako neki spojevi pokazuju antioksidativnu ili protuupalnu aktivnost, dominacija toksičnih aristolohičnih kiselina čini biljku neprikladnom za primjenu u humanoj terapiji [100, 101].

1.4.3. Povijesna uporaba i regulacija

Biljka ima bogatu povijest primjene u fitoterapiji. Dioskorid već u 1. stoljeću u djelu *De Materia Medica* spominje njezinu uporabu kao pročišćivača krvi, sredstva za izazivanje menstruacije i lokalno sredstvo za zacjeljivanje rana [102]. Tijekom srednjeg vijeka zabilježena je njena uporaba u liječenju reume, kožnih bolesti i probavnih smetnji. Podanak se najčešće koristio, kako u narodnoj tako i u ranonovovjekovnoj medicini, a biljka se sakupljala u proljeće ili jesen [101, 103]. Međutim, napredak u toksikološkim istraživanjima pokazao je jasnu povezanost AA-a s nastankom AAN-a i UUC-a, osobito nakon dokumentiranih slučajeva kronične intoksikacije uzrokovane unosom biljnih pripravaka koji sadrže vrste roda *Aristolochia* [40, 104]. Danas je njihova uporaba zabranjena ili strogo regulirana u većini zemalja [104, 105, 106].

1.4.4. Etnofarmakološki i javnozdravstveni aspekti

Unatoč dokazanoj toksičnosti, vrste roda *Aristolochia* i dalje se rabe u tradicionalnoj medicini brojnih regija, ponajviše u Aziji i Latinskoj Americi. Heinrich i suradnici upozoravaju na manjak kontrole i sustavne toksikološke procjene u mnogim dijelovima svijeta, osobito u zemljama gdje se biljke koriste za liječenje probavnih poremećaja [107]. Problem postaje izražen kada dolazi do izrazitog izlaganja kroz biljne pripravke, kao što je bio slučaj u Belgiji 1990-ih s pripravcima kineskog zmijskog korijena (*Aristolochia fangchi*), što je dovelo do pojave brojnih slučajeva AAN-a i UUC-a.

Zbog etnofarmakološke rasprostranjenosti i neregulirane uporabe, Međunarodna agencija za rak SZO-a (IARC) poziva na strožu kontrolu kvalitete biljnih lijekova, s

posebnim naglaskom na analizu kontaminacije i sadržaj aristolohičnih spojeva [104, 106]. Na području Balkana *Aristolochia clematitis* je u hrvatskoj tradicijskoj medicini desetljećima korištena kao oblog za rane i protuotrov, a u srpskoj tradicionalnoj medicini historijski se koristila za liječenje rana, kožnih infekcija i menstrualnih tegoba [108, 109]. Neobično je što HAPIH i Ministarstvo poljoprivrede, pa čak ni HALMED i Ministarstvo zdravstva nisu nikada izdali upozorenje o opasnostima po zdravlje povezano s unosom AA-a kroz razne biljne pripravke.

1.4.5. Rasprostranjenost i ekološke značajke

Izvorno područje rasprostranjenja *Aristolochia clematitis* vjerojatno uključuje južnu Europu, Malu Aziju i Kavkaz, a sekundarno se proširila u srednju i istočnu Europu gdje je danas naturalizirana [68]. Pretpostavlja se da se počela širiti još u antičko doba, a u srednjem vijeku je već bila značajno proširena. Najvjerojatnije se u nova područja širila kao korov (osobito u vinogradima), a istovremeno s tim i kao posljedica uzgoja u medicinske svrhe. Zbog toga je teško precizno identificirati izvorno područje rasprostranjenosti vrste [95, 110]. Iako je danas rasprostranjena po cijeloj Europi, mjestimično je vrlo česta. Zbog procesa naturalizacije i značajnog utjecaja čovjeka na rasprostranjenost ove vrste teško je jasno definirati stanište na kojem pridolazi, odnosno njenu ekološku nišu [68]. Zbog toga su u literaturi prisutni različiti podaci. Međutim, može se generalizirati da *Aristolochia clematitis* obično raste na toplim, osunčanim mjestima s tlima bogatim hranjivim tvarima, u svijetlim poplavnim šumama, na obalama vodotoka, na nasipima, pustarama, šikarama, u vinogradima te uz cestovne i željezničke nasipe [95, 110]. Smatra se dijagnostičkom vrstom za priobalne galerijske šume (*Alno glutinosae-Populetea albae*) i poluprirodnu višegodišnju vegetaciju visokog zeljastog bilja na poremećenim rubovima šuma, obalnim rubovima bogatim hranjivim tvarima i na šumskim čistinama (*Epilobietea angustifolii*) [96]. Za Hrvatsku je relativno često zabilježena na cijelom području, od Istočne Hrvatske do Istre, te od Međimurja do Dubrovačkog primorja. Najrjeđe je zabilježena u gorskom području Gorskoga kotara, Like i Velebita [68, 97]. Ekološka niša neke biološke vrste, pa tako i vrste *Aristolochia clematitis*, opisuje njeno podudaranje s određenim ekološkim uvjetima. Naime, ekološka niša je specifična uloga i

položaj koji neka vrsta ima unutar svog ekosustava i može se definirati kao položaj i širina distribucije te vrste duž različitih osi niše [111]. Teorija niše pretpostavlja da vrsta ima temeljnu nišu ili fiziološku nišu u odnosu na neki gradijent okoliša i u odsutnosti konkurenata [112, 113]. U prisutnosti konkurenata, niša vrste reducira se na ostvarenu (realiziranu) ekološku nišu. Utjecaji konkurenata smanjuju širinu realizirane niše i mogu pomaknuti njezin položaj. Ekološki odgovor organizama na različite čimbenike okoliša varira u zavisnosti od geografskog položaja na kojem vrsta pridolazi. Ove razlike u ekološkom odgovoru (reakciji) u različitim dijelovima areala vrste mogu biti rezultat lokalne prilagodbe na uvjete okoliša i mogu utjecati na temeljnu i realiziranu diferencijaciju niša u geografskom rasponu vrste. Diferencijacija realizirane niše unutar iste globalne temeljne niše rezultat je procesa kao što su - varijacije u biotičkim interakcijama u različitim dijelovima areala vrste (npr. facilitacija, kompetitivno premještanje), procesi kompenzacije staništa (npr. kompenzacija zbog ekofiziološkog stresa gdje vrsta kompenzira pogoršanje fizioloških životnih uvjeta na rubu svog areala promjenom položaja niše), ili ograničenje disperzijskih mehanizama vrste [114-118].

Vrsta *Aristolochia clematitis* se javlja na velikom geografskom prostoru na vrlo različitim staništima. Njena sadašnja rasprostranjenost, podrijetlo i povijest naturalizacije je vrlo slabo poznata i nedovoljno istražena. Zbog toga je i u literaturi vrlo malo podataka o njejoj ekološkoj niši, a osobito o razlikama u realiziranoj ekološkoj niši u različitim dijelovima sadašnjega areala. I inače, kod drugih vrsta vrlo je malo podataka o diferencijaciji ekološke niše duž geografskog raspona vrste, a što je jedan od bitnih preduvjeta za razumijevanje obrazaca njihove distribucije u prošlosti, te predviđanje budućih odgovora na promjene okoliša [119, 120, 121], a što je osobito važno kod vrsta koje mogu značajno utjecati na život i zdravlje čovjeka. Tijekom 60-ih godina prošlog stoljeća Kovačević i suradnici rade agroekološka istraživanja klime, vegetacije i tala na području Jelas polja (endemsko područje u Hrvatskoj) i navode da se na ovom području jasno razlikuju dvije diferentne korovske zajednice i to: a) korovska zajednica vučje stope *Aristolochia clematitis* i b) korovska zajednica poljske djeteline i treskavica (*Trifolium arvense* – *Scleranthus annuus*) [122]. Navode također da je asocijacija vučje stope vezana za grupe aluvijalno – deluvijalnih tala, a da asocijacija poljske djeteline i treskavice

indicira parapodzolasta tla (acidofilna staništa). U radu ističu i druge prisutne vrste korova koji jasno karakteriziraju određene tipove tala i nekadašnja staništa drvenaste vegetacije poput hrasta lužnjaka, poljskog jasena, vrbe i johe. Na formiranje ovih tipova tala u promatranom području presudan je utjecaj imala voda. Erozijskim aktivnostima bujičnih voda s padina Dilja taložen je materijal prema južnim nižim terenima. Istodobno s deluvijacijom odvijao se i proces aluvijacije tijekom kojeg su vodotoci koji teku u smjeru sjever-jug plavili okolni teren i nanosili materijal različite granulacije. Procesi pedogeneze deluvijalno-aluvijalnih tala odvijali su se paralelno s hidrogenizacijom, uvjetovanom visokim nivoom podzemnih voda i periodičnom stagnacijom oborinskih voda. Kod parapodzoličnih tala, kao dominantan pedogenetski čimbenik ističe se početna faza podzolizacije. Ovakvi procesi odredili su današnju morfologiju tla, njegovu teksturu i vodno-zračne odnose, što ima izravan utjecaj na poljoprivrednu proizvodnju i vegetacijski pokrov područja.

1.5. Uzgoj pšenice

Pšenica je jedna od ključnih žitarica u globalnoj poljoprivrednoj proizvodnji, s dugom poviješću uzgoja koja seže u pretpovijesno doba, posebno u području srednje Azije. Tijekom stoljeća pšenica se proširila u različite klimatske zone, postavši osnovna prehrambena namirnica u mnogim dijelovima svijeta. U našim krajevima, tijekom 1940-ih i 1950-ih godina, tehnologija uzgoja pšenice temeljila se na tradicijskim iskustvima, ali i na postupnom prihvaćanju modernih agrotehničkih mjera. Pšenica se prvenstveno koristi za proizvodnju brašna, esencijalnog sastojka u ljudskoj prehrani, dok se slama najčešće upotrebljava kao stočna krma i stelja. Prema botaničkim svojstvima razlikuju se dvije glavne skupine: prave pšenice i pirovi. Prave pšenice imaju gole sjemenke i čvrsto vreteno klasa, s najviše 25 cvjetića, od kojih se razvije 23 zrna. Pirovi su starije sorte nižeg prinosa, danas rijetko korištene. Unutar pravih pšenica razlikujemo meke pšenice, koje daju svjetlija zrna pogodna za meko brašno, te tvrde pšenice, s čvrstim zrnom bogatim glutenom, idealnim za kvalitetno krušno brašno. U našim su se krajevima 1940-ih i 1950-ih najčešće uzgajale sorte *Sisulja Osiječka U 1*, *Sirban Prolifik*, *Bankut* i *Banatska pšenica*,

svaka s posebnim agronomskim prednostima i ograničenjima, poput otpornosti na mraz ili osjetljivosti na rđu [123].

Priprema tla bila je temelj uspješnog uzgoja i ovisila je o prethodnim kulturama. Nakon ranih usjeva primjenjivalo se trojačenje, valjanje i drljanje, dok su iza kasnijih kultura, poput kukuruza ili šećerne repe, provodila duboka oranja uz prilagođenu završnu obradu. Rokovi sjetve varirali su prema regijama – od sredine rujna u Hrvatskom zagorju do kraja listopada u Istri, dok se jara pšenica sijala od kraja veljače do sredine ožujka. Njega usjeva obuhvaćala je kontrolu prebujnog rasta, uređenje odvodnih jaraka i zaštitu od nepovoljnih vremenskih uvjeta. Žetva je započinjala krajem lipnja i trajala do početka srpnja, a provodila se ručno ili, na većim površinama, kombajnama [123].

Tavanuša i rizici u poljoprivrednoj praksi

Prema Džidić i Čizmić, pojam tavanuša označava necertificirano i nekontrolirano sjeme pšenice, često onečišćeno sjemenkama korova i patogenima, koje dovodi do smanjenja prinosa i pogoršanja kvalitete uroda. Za razliku od toga, farmersko sjeme može biti kvalitetno ako se proizvodi pod nadzorom i u skladu sa zakonskim propisima, čime se osigurava genetska stabilnost i zdravstvena ispravnost materijala [124].

Uporaba necertificiranog, nekontroliranog sjemena pšenice u pučkoj praksi poznatog kao tavanuša i dalje je prisutna na pojedinim gospodarstvima, osobito u uvjetima ograničenih financijskih mogućnosti. Takvo sjeme potječe od prethodne žetve i najčešće nije prošlo doradu, dezinfekciju ni kontrolu klijavosti. Posljedica njegove primjene su neujednačeni usjevi, smanjena energija klijanja i veća osjetljivost na bolesti i štetnike, što se u konačnici odražava na niži prinos i slabiju kakvoću zrna. Horvat i suradnici ističu da kvalitetno i zdravo sjeme predstavlja osnovni preduvjet stabilne i sigurne proizvodnje žitarica, dok „tavanuša“ često sadrži primjese korovskih sjemenki, patogene gljivice i mehanička oštećenja koja negativno utječu na nicanje i zdravlje biljaka [125]. Primjena certificiranog i zdravstveno ispravnog sjemena, prema istim autorima, ključna je za ostvarenje visokih i ujednačenih prinosa te dugoročnu održivost poljoprivredne proizvodnje. Nedorađeno sjeme nepoznate sorte, tzv. „tavanuša“ predstavlja veliku opasnost za širenje bolesti i štetnih korova u žitaricama.

U kontekstu BEN-e, često korištenje „tavanuše“ na prostorima endemskih sela omogućavala je da se u narednim sjetvama sjemenke *Aristolochia clematitis*, koje su u „tavanuši“ ostajale zajedno sa sjemenkama pšenice zbog loših tehnoloških mogućnosti separacije tijekom vršidbe, ponovo zasijavaju na polja gdje je i inicijalno biljka *Aristolochia clematitis* bila zastupljenija nego na drugim poljima. Tako se povećavala i vjerojatnost izloženosti i količina AA-a koju bi članovi kućanstava s BEN-om unosili kruhom, krug se zatvarao što se uklapa u mozaičnost bolesti i u fenomen tzv. *crnih kuća*.

1.5.2. Alati za obradu tla

Alati za obradu tla imali su presudnu ulogu u osiguravanju dobrih prinosa. Plug je bio osnovni alat, s jednobrazdnim varijantama za manja gospodarstva i dvobrazdnim za veće površine. Početak mehanizacije 1930-ih godina obilježilo je uvođenje traktora koji su polagano počeli zamjenjivati plugove i sijačice na konjsku vuču. Korištenje traktora omogućilo je učinkovitije oranje i sadnju [126]. Motokultivatori i freze služili su za usitnjavanje i kultivaciju, dok su kopači, disk-brane i kombinirane brane predstavljali 1950-ih godina moderniji pristup obradi, osiguravajući ravnomjernu i optimalnu pripremu sjetvene posteljice. Tehnike obrade uključivale su duboko oranje radi prozračivanja i razbijanja zbijenih slojeva tla, te površinsku obradu za finalno ravnanje i pripremu prije sjetve. Takva kombinacija prilagođenog odabira sorti, pravilne pripreme tla, pravovremene sjetve i odgovarajućih alata omogućila je poljoprivrednicima tog vremena da, unatoč ograničenim tehničkim resursima, postignu stabilne i kvalitetne prinose pšenice [123]. Tijekom razdoblja 1960-ih do 1980-ih godina, mehanizacija se značajno proširila. Uvedeni su moderniji, učinkovitiji traktori, veći kombajni i specijalizirana oprema za rukovanje žitaricama. Ovo doba je doživjelo uspon velikih farmi i modela zadružnog uzgoja. Brčić navodi da se to odnosi naročito na *Poljoprivredne kombinat*e koji se 1970-ih godina služe najsuvremenijom tehnologijom toga vremena u proizvodnji pšenice, s odgovarajućom visokoproduktivnom mehanizacijom [127]. Na taj način omogućena je potpuno mehanizirana provedba svih faza tehnološkog procesa od pripreme tla do uskladištenja zrna uz mali utrošak ljudske radne snage. Autor naglašava da je osobito dobro mehanizirana žetva pšenice. Međutim, navodi da se na malim parcelama

individualnih proizvođača mogu još vidjeti zaostaci u napretku tehnologije i česta je pojava da se još sije i žanje rukom. Ipak ističe značajan porast uporabe kombajna u žetvi pšenice na individualnim gospodarstvima kooperacijom s kombinatima. Domaća industrija u to vrijeme izrađuje specijalne kombajne za rad na malim parcelama i nagnutim terenima. U razdoblju 1990-ih godina, gospodarska i politička nesigurnost usporila je tempo modernizacije, ali ona se nije zaustavila. Prva primjena tehnologija precizne poljoprivrede - poput GPS sustava, senzora i satelitskog navođenja - počela se nedavno uvoditi u Hrvatskoj i Slavoniji, pogotovo na većim farmama koje su mogle priuštiti tehničku nadogradnju [128]. Danas je sve veći naglasak na održivim praksama i poboljšanjima učinkovitosti, uz ulaganja u energetske učinkovite strojeve i prakse koje smanjuju utjecaj na okoliš. U svijetu je najnoviji razvoj usmjeren na preciznu poljoprivredu koja koristi GPS, senzore, IoT, satelitsko daljinsko očitavanje i analizu podataka kao temelj za optimizaciju proizvodnje žitarica. AI-automatizirani strojevi - uključujući autonomne traktore, robotske žetelice i dronove koji omogućuju precizne operacije poput ciljanog prskanja i nadzora usjeva, povećavajući produktivnost i resursnu učinkovitost [129]. Dronovi se široko primjenjuju u modernoj poljoprivredi za detaljno mapiranje, precizno prskanje i nadzor stanja usjeva, čime se smanjuju troškovi i povećava kvaliteta upravljanja poljima [130]. Precizna poljoprivreda, zasnovana na GPS-u, IoT-u i analitici podataka, povećava učinkovitost resursa, smanjuje otpad, poboljšava prinose i potiče održivost - ključni trend za budućnost poljoprivrede [131].

1.5.3. Unaprjeđenje poljoprivrede u endemskom području

Shvaćajući zaostatke u razvoju poljoprivrednih gospodarstava zbog opterećenja poljoprivrednih površina poplavnim vodama na području Jelas polja (endemsko područje), Petričević i suradnici 1944. godine izdaju prvu gospodarsku osnovu te vrste za područje Jelas polja [132]. Gospodarskom osnovom detaljno analiziraju stanje poljoprivrednih gospodarstava toga vremena i daju smjernice za poboljšanje poljoprivredne proizvodnje na području kojega i nakon izgradnje savskog nasipa 1878. godine još opterećuju poplave brdskim i unutarnjim vodama. Mrsunja u to vrijeme od studenog do lipnja poplavljuje veliko područje od oko 153 km² Jelas polja. Tako je prema podacima poplavi izloženo prosječno

8000 k. j. (cca 4600 ha) oranica, a vegetaciju livada čine uglavnom korovi i loše livadske trave. Površina oranica na čitavom području Jelas-polja iznosi 8.894,6 ha odnosno 29,6 % od ukupne površine ili 38,2 % od poljodjelske površine; površina livada 6.639,7 ha tj. 22,1 % od ukupne površine ili 28,6 % od poljodjelske površine; površina pašnjaka 6.333,8 ha odnosno 21,1 % od ukupne ili 27,2 % od poljodjelske površine. Pašnjaci i livade zauzimaju veći dio površina nego oranice, a na šume i neplodno tlo otpada također velik dio površine (slika 9). Najveći dio zelene površine (gotovo svi pašnjaci i manji dio livada) kao i velike površine šuma u vlasništvu je tadašnjih zemljišnih zajednica i države. Većina zemljišta kod seljačkih gospodarstava odnosi se na oranice i livade. Prosječna veličina seljačkog gospodarstva je 5,3 ha bez površine zemljišnih zajednica. Za tržište se pšenica proizvodi samo u većim gospodarstvima kod kojih oranice nisu u poplavnom području i gdje su veće površine pod pšenicom nego pod kukuruzom. Petričević i suradnici navode također da je proizvodnja pšenice manja od proizvodnje kukuruza, a da osobito veliku proizvodnju kukuruza u odnosu na proizvodnju pšenice imaju općine u nizinskom dijelu Jelas polja Kaniža, Bebrina, Kobaš (prilog 1 tablica 1S). Navode također da je sijeno slabe kakvoće zbog velike prisutnosti korova i kiselih trava. Prosječna godišnja proizvodnja pšenice po 1 stanovniku iznosi 1.40 q (140 kg), a kukuruza 3.23 q (323 kg). Prosječna godišnja proizvodnja pšenice od 140 kg po 1 stanovniku je tek tolika, da ne bi mogla namiriti ni potrebe proizvođača za kruhom, ako bi seljačke obitelji trošile samo pšenični kruh. No kako se osim pšeničnog troši i mnogo kukuruznog kruha, a negdje se gotovo isključivo troši kukuruzni kruh, ostaje u mnogim gospodarstvima pšenice i za prodaju. Od ratarskih proizvoda seljaci prodaju većinom kukuruz. U mnogim gospodarstvima to je glavni izvor prihoda. U manjoj mjeri prodaje se pšenica. Samo u malom broju gospodarstava pšenica predstavlja glavni izvor prihoda.

seljačkog posjeda sposobnog za samostalno funkcioniranje, uzimajući u obzir zakonske propise o nasljednom pravu i o potpunoj slobodi raspolaganja seljačkim posjedom koji se neće moći zauvijek održati, jer će se neprestanom diobom smanjivati. Autori navode da je isušivanjem moguće povećati površinu oranica za cca 6.800 ha s tim da bi se trenutno postojeće livade najvećim dijelom pretvorile u oranice. Također upozoravaju da se te promjene neće moći izvršiti odjednom, nego postepeno, jer će se iz temelja mijenjati struktura većine seljačkih gospodarstava, a osobito s obzirom na potrebe oruđa te sprežne i ručne radne snage. Nakon isušivanja Jelas polja otvaraju se velike mogućnosti za raznovrsniju ratarsku proizvodnju. Monokulturu kukuruza zamijenit će više sjetve ozimih žitarica i sustavna proizvodnja krmnog bilja. Veći značaj dobivaju uljarice, predivo bilje i krmna repa, dok se krumpir uglavnom uzgaja za vlastite potrebe zbog nepovoljnih tala. Od ukupne površine od 30.065 ha, koja se posve ili djelomično nalazi na užem području Jelas polja, poplavno područje obuhvaća oko 20.486 ha. To je sva površina južno od linije, do koje dopiru poplavne vode. Jedan neznatan dio toga dijela nije nikada poplavljen. Nepoplavljene površine unutar poplavnog područja najvećim su dijelom na južnom rubu Jelas polja prema rijeci Savi, na kojem se javljaju grede. Nakon Drugog svjetskog rata počinju radovi na pojačavanju savskoga napisa, melioraciji, izgradnji oteretnih kanala i crpnih stanica (npr. u Migalovcima i Davoru), a provedbe mjera planiranih gospodarskom osnovom za Jelas polje 60-ih i 70-ih godina dolazi do promjena u poljoprivrednom gospodarenju koje se odnose na plodored koji se u poplavnom području temeljito mijenjaju. Nestaje uzastopno uzgajanje kukuruza iz godine u godinu na istoj površini i daje se mogućnost sjetvi ozimih žitarica te krmnoga i industrijskoga bilja. Isto tako proširuje se dvopoljni plodored: 1. kukuruz - 2. pšenica, koji je u poplavnom području dosta raširen, umetanjem krmnog bilja (grahorica, djetelina) i razvija tropoljni, a s vremenom se mijenja u tipični mjenbeni plodored. Sve ove promjene događaju se na poplavnom području Jelas polja, dok se promjene na sjevernom rubu Jelas polja uz željezničku prugu i glavnu cestu kreću uglavnom u pravcu veće proizvodnje krmnog bilja na oranicama, povećanju površine pod industrijskim kulturama i uvođenju zelene gnojidbe. Kukuruzna gospodarstva, u kojima je bila glavna, a često i jedina oranica kultura kukuruz, nestaju i prelaze u kukuruzno–žitnička ili žitničko–kukuruzna gospodarstva: 1.

Žitničko – kukuruzna gospodarstva Glavni usjev na oranicama su žitarice, i to u prvom redu pšenica. Zob i ječam imaju veće značenje nego ranije. Kukuruz je glavna okopavina i zauzima uglavnom manje površine nego žitarice. Kukuruz i žitarice zauzimaju površinu od oko 60 - 70 % oranica. Povećanje uzgoja krmnog bilja na oranicama. Glavni plodoredi su tro- i višepoljni; 2. Kukuruzno – žitnička gospodarstva Glavni usjev na oranicama je kukuruz. Žitarice obuhvaćaju manju površinu nego kukuruz. Površina kukuruza i žitarica obuhvaća oko 70 % površine oranica. Glavni plodoredi su tro- i višepoljni. Ovaj sustav je prijelazna faza u razvoju kukuruznih gospodarstva u žitničko -kukuruzna gospodarstva. Taj prijelaz je polagan iz gospodarsko–upravnih i gospodarsko–tehničkih razloga. Jedino u gospodarstvima, gdje je razmjerno velika proizvodnja kukuruza uvjetovana posebnim gospodarskim uvjetima (svinjogojstvo), sustav kukuruznih gospodarstava ostaje i dalje u funkciji; 3. Žitničko–kukuruzna gospodarstva s vinogradarstvom. Voćarstvo ni u jednom od ovih sustava nema većeg značenja. Voćarstvo ostaje u glavnim crtama u istom opsegu kao i prije i ograničeno na sjevernom rubu Jelas-polja u brežuljkastom području. Povećanje prinosa biljnih proizvoda. Nakon melioracija i isušivanja, prinosi u nizinskom dijelu Jelas polja ne razlikuju se od prinosa na sjevernom rubu Jelas polja uz željezničku prugu. Oni postaju čak i viši.

Tablica 3. Prosječni prinosi po 1 ha prije i nakon melioracije [132]

Kultura	Prinos prije (q/ha)	Prinos prije (kg/ha)	Prinos poslije (q/ha)	Prinos poslije (kg/ha)
Pšenica	13,8	1.380	16,0	1.600
Kukuruz	18,5	1.850	22,0	2.200
Sijeno	30,2	3.020	30,0	3.000

Prema tablici 3 za čitavo područje Jelas polja nakon isušivanja prosječni minimalni prinosi po 1 ha iznose pšenica 16 q, kukuruz 22 q, sijeno 30 q. Prema prosječnim prinosima pšenice i kukuruza po 1 stanovniku godišnje: 3,36 q pšenice i 5,73 q kukuruza. Proizvodnja pšenice od 3,36 q po 1 stanovniku znatno premašuje potrebe proizvođača i omogućuje velike količine za prodaju. Radi velike proizvodnje pšenice, kukuruz se puno

manje troši u obliku kruha, ali zato više služi kao krma u svinjogojstvu i djelomično za prodaju. Povećanjem proizvodnje žitarica, povrća, krumpira i mlijeka prehrana seljačkih obitelji postala je raznovrsnija i kvalitetnija, više nije bila jednostrana i oslonjena gotovo isključivo na kukuruz. Istodobno se povećala i proizvodnja namijenjena tržištu. Nakon melioracija, intenziviranje poljoprivrede odnosi se i na uvođenje tvorničkih željeznih plugova i ostalog oruđa. Također jedno od uvedenih unaprjeđenja poljoprivrede na ovome području je zadrugarstvo. Poljoprivredna zadruga s. o. j. Gradiška Bebrina osnovana je 1945. godine, a u 1952. godini upisana je u Zadružni registar Narodnog odbora kotara Slavonski Brod [133]. Od djelatnosti zadruge ovdje ističemo „mlin za prostu meljavu sa pilanom“ te „zamjena žitarica za brašno i obratno“ [134]. Zadruga je otkupljivala pšenicu „talijanku“ na koju su rasipali umjetno gnojivo i prskali je herbicidima te je bio predviđen prinos pšenice oko 20 metara po jutru. Zadruga je svojom vršalicom i traktorima radila usluge [135, 136]. Unutar Zadruge otvorena je mjenjačnica brašna 1959. godine, a iste je godine od Poljoprivredne zadruge Šumeće nabavljen traktorski rasipač umjetnog gnojiva „Ciklon“ Poljoprivredna zadruga Bebrina 1960. godine uzela je mlin i pilanu Vinka Udovičića u zakup i radila „prostu meljavu“.

1.5.4. Herbicidi

Uvođenje herbicida u poljoprivredu u Slavoniji, započelo je sredinom XX. stoljeća u kontekstu značajnog napretka u kemijskom suzbijanju korova. Primjena herbicida imala je višestruki utjecaj na poljoprivredu. S jedne strane, omogućila je intenzivniju obradu tla i veće prinose uz smanjenje potrebne radne snage i troškova proizvodnje. S druge strane, otvorila je nova pitanja vezana uz zaštitu okoliša i zdravlja ljudi. Ovi izazovi potaknuli su razvoj regulatornih okvira i implementaciju najboljih praksi za ublažavanje negativnih posljedica. U Jugoslaviji, *Osnovni zakon o zaštiti bilja od bolesti i štetočina (Službeni list SFRJ, br. 13/65)* definirao je uvjete za stavljanje pesticida u promet ili uvoz, izdavanje dozvola, kontrolu prometa te sankcije za odgovorne osobe i organizacije [137]. Tijekom 1960-ih i 1970-ih godina uveden je niz herbicida za suzbijanje širokolisnih i uskolisnih korova u širok spektar kultura, uključujući pšenicu, kukuruz, uljanu repicu, soju, pamuk, voće, povrće i šumske nasade [137, 138, 139]. Prije uvođenja kemijskih sredstava,

kontrola korova u Slavoniji temeljila se na ručnom plijevljenju i mehaničkoj obradi tla, što je bilo radno intenzivno i vremenski zahtjevno. Najčešći korovi, poput poljskog povija (*Convolvulus arvensis*), divlje gorušice, divlje zobi (*Avena fatua*) i poljske trave (*Echinochloa crus-galli*), značajno su smanjivali prinose. Intenziviranje primjene herbicida tijekom 1960-ih i 1970-ih godina omogućilo je učinkovitije uklanjanje korova, ali je dovelo i do pojave otpornosti te ekoloških izazova. Razvoj i primjena herbicidne tehnologije u ovom razdoblju oblikovala je temelje suvremene poljoprivredne prakse u Slavoniji i postavila okvir za razvoj održivih i integriranih strategija zaštite bilja. Tijekom 1960-ih i 1970-ih godina u Hrvatskoj se počeo koristiti širok spektar herbicida, čija je primjena ovisila o kulturi, vrsti korova te uvjetima proizvodnje. Ovi pripravci omogućili su značajno smanjenje potrebe za ručnim plijevljenjem i povećali učinkovitost suzbijanja korova, iako su istodobno zahtijevali prilagodbu tehnologije uzgoja i poštivanje preporučenih doza i rokova primjene [137, 138, 139]. Dokaz da su se herbicidi počeli intenzivno koristiti 1960-ih godina na hrvatskom endemskom području nalazi se i u Tarifnom pravilniku iz 1959. godine u kojem stoji da je Poljoprivreda zadruga s. o. j. Gradiška Bebrina otkupljivala pšenicu „talijanku“ na koju su rasipali umjetno gnojivo i prskali je herbicidima te je bio predviđen prinos pšenice oko 20 metara po jutru. Zadruga je svojom vršalicom i traktorima radila usluge žetve [136].

Razvoj i širenje primjene poljoprivredne mehanizacije, uz paralelni napredak u proizvodnji i uporabi herbicida, omogućili su učinkovitije i jednostavnije uništavanje korovske vegetacije na velikim poljoprivrednim površinama. Primjena herbicida postala je znatno pristupačnija i operativno jednostavnija, čime se povećala produktivnost i smanjila potreba za intenzivnim ručnim radom. Prskanje se afirmiralo kao najčešća metoda primjene pesticida, kako u zaštiti ratarskih, tako i povrtlarskih i voćarskih kultura. Korišten je širok raspon prskalica, od jednostavnih ručnih uređaja za manje površine, do traktorskih nošenih i vučenih prskalica namijenjenih većim gospodarstvima. Na prostranim poljoprivrednim parcelama, osobito u ratarstvu, značajnu je ulogu imala i primjena aviona za tretiranje herbicidima u suzbijanju korova u pšenici. Na manjim površinama korov u pšenici tretirao se nošenim njivskim prskalicama [127]. U usporedbi s razdobljem 1950.-1970. godine, broj korovskih vrsta na poljima s konvencionalnom proizvodnjom značajno

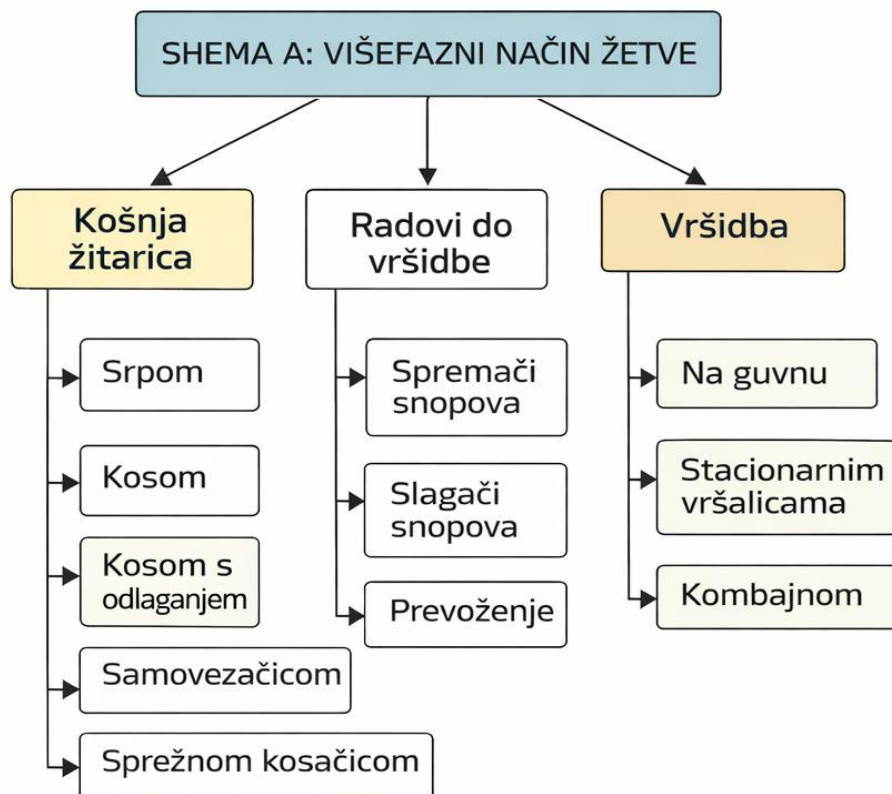
smanjen te danas predstavlja samo manji udio nekadašnje florističke raznolikosti [139, 140]. Pregled korištenih herbicida nalazi se u prilogu 2 tablica 2S, te slika 1S koja prikazuje ulogu herbicida.

1.5.5. Žetva i tehnologija žetve

Razvoj tehnologije žetve i dorade žitarica obilježen je višestoljetnim napretkom od ručnog rada do potpuno automatiziranih strojeva i stalnim unapređenjima u konstrukciji i radu vršidbenih uređaja te sustava za separaciju i čišćenje zrna. U najranijim oblicima žetve koristili su se srpovi i kose, a nakon toga mehaničke kose i žetelice koje su smanjile potrebu za ljudskim radom, ali proces odvajanja zrna od klasa i daljnje čišćenje i dalje se obavljao odvojeno. Također razni autori navode da se početkom XX. stoljeća proizvodnja žitarica u Slavoniji uvelike oslanjala na ručni rad i konjsku zapregu, a poljoprivrednici su koristili srpove, kose i osnovne vršalice. Vršidba se najprije obavljala ručno - mlatilom kojim se udaralo po pšenici, a unaprjeđenjem se prešlo na gaženje pšenice stokom na guvnu. Izdvajanje čiste pšenice obavljalo se vjetrom tj. vijanjem kako bi se uklonile sitne nečistoće i prašina. Naknadno se pojavljuju ručno, a zatim motorom pogonjene vjetrulje. Prvi mehanizirani sustavi bili su stacionarni žetveni strojevi s jednostavnim vršidbenim mehanizmima i ventilacijom, pogonjeni životinjskom snagom, parnim strojevima rjeđe na manjim gospodarstvima, što potvrđuje rad Fabijanića i Kovačeva ili kasnije motorima s unutarnjim izgaranjem, gdje su se procesi vršidbe i odvajanja zrna od primjesa obavljali odvojeno, a čistoća zrna uvelike je ovisila o dodatnoj ručnoj obradi [141]. Te vršalice sastojale su se generalno od uređaja za vršenje, čišćenje, sortiranje i uvrećavanje pšenice (slika 10). U tim ranim sustavima zrno se prosijavalo preko jednostavnih sita uz pomoć osnovne ventilacije, dok su se teži i lakši dijelovi smjese odvajali prvenstveno gravitacijom i ručnim prosijavanjem [142].



Slika 10. Vršidba pšenice vršalicom, sredina XX. stoljeća (Muzej Brodskog Posavlja
Zbirka fotografija MBP-26480)



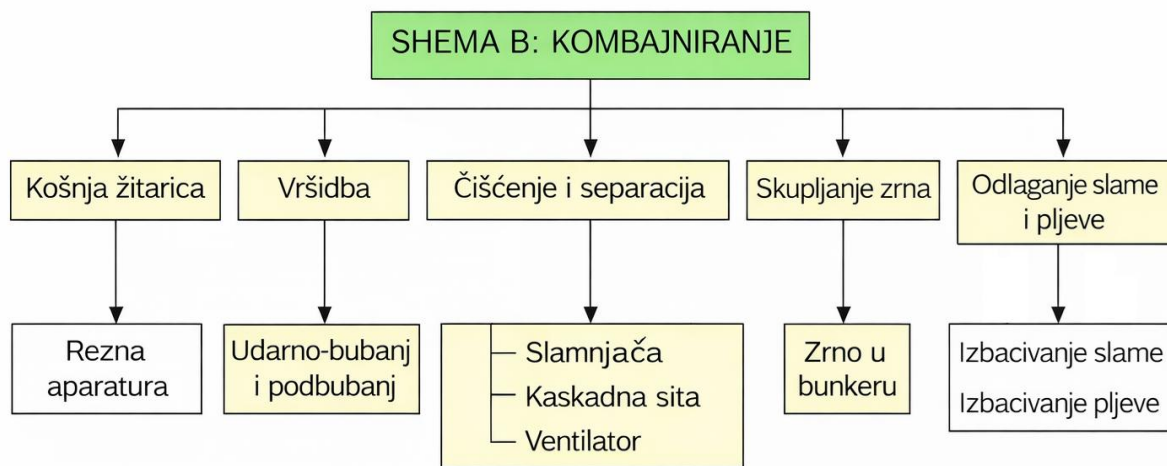
Slika 11. Shema višefaznog načina žetve

Slika 11 prikazuje shematski prikaz višefaznog načina žetve, u kojem je proces podijeljen na tri osnovne cjeline: košnju žitarica, radove do vršidbe i samu vršidbu. U prvom dijelu prikazani su različiti načini košnje, od ručnih i jednostavnijih postupaka, kao što su žetva srpom i kosom, do mehaniziranih oblika, poput kose s odlaganjem, samovezačice i sprežne kosačice. Središnji dio sheme odnosi se na radove između košnje i vršidbe, koji uključuju spremanje snopova, slaganje snopova i njihovo prevoženje. Završni dio prikazuje različite načine vršidbe, od tradicionalne vršidbe na guvnu i stacionarnih vršalica do kombajna kao suvremenijeg rješenja. Shema jasno pokazuje da je višefazni način žetve podrazumijevao vremenski i radno odvojene postupke, pri čemu su košnja, priprema požnjevenog materijala i vršidba činile zasebne etape proizvodnog procesa. Takav prikaz važan je jer omogućuje razumijevanje razvoja od ručnih i jednostavnijih oblika rada prema složenijim i mehaniziranim sustavima, kao i uvid u organizacijsku složenost tradicionalnog načina žetve.

Postupci nekadašnje žetve i vršidbe opisani su također u Pričama iz prošlosti u tekstu „Od sjetve do vršidbe“, a primjenjivani su i u endemskom području BEN-a (slika 11) [143]. Od 1960-ih godina se tehnologija žetve na području Slavonije tako i na promatranom endemskom području značajno unaprijedila kroz razvoj i primjenu novijih tehnoloških rješenja u poljoprivrednim djelatnostima. O pojačanoj primjeni mehanizacije u Jugoslaviji 1969. godine piše i Josip Brčić u knjizi *Mehanizacija u biljnoj proizvodnji* [127]. Značajan iskorak nastupio je razvojem kombajna, u kojem su procesi žetve,

vršidbe, separacije i čišćenja integrirani u jedinstvenu radnu liniju. Time se omogućila kontinuirana obrada mase od ulaska biljke u heder do isporuke zrna u spremnik, uz istovremeno odvajanje slame i nečistoća. Prvi kombajni pojavili su se u Kaliforniji već 1855. godine. Njihova uporaba znatno je porasla između dva svjetska rata (prvi samokretni kombajn 1939. godine), a nakon Drugoga svjetskog rata u većini razvijenih zemalja postali su gotovo isključivi strojevi za žetvu pšenice i drugih žitarica te su postali univerzalni strojevi za žetvu. Takvi suvremeni kombajni kombiniraju aerodinamičke, oscilirajuće i kombinirane metode separacije, čime postižu visoku učinkovitost odvajanja i minimalne gubitke zrna [142]. Tehnološki napredak posebno je vidljiv u sustavima ventilacije i rešetnog stana. Kod ranijih izvedbi ventilatori su imali ograničenu mogućnost regulacije, dok današnji kombajni koriste podesive ulazne otvore, varijatore brzine ventilatora i usmjerivače zraka (deflektore) koji omogućuju optimalno strujanje zraka kroz sita. Primjena dvostrukog strujanja zraka, gdje se dio zračne struje dovodi iznad sita radi boljeg odstranjivanja lakših primjesa, dodatno povećava učinkovitost čišćenja. Osim primarnog čišćenja, razvijeni su i sustavi drugog čišćenja zrna, koji mogu uključivati dodatne ventilatore ili aspiratorske sustave. Na taj način postiže se visoka čistoća konačnog proizvoda, s minimalnim udjelom korovskih sjemenki i loma zrna. Ovi sustavi predstavljaju značajno poboljšanje u odnosu na ranije tipove strojeva, kod kojih su mogućnosti ponovnog pročišćavanja bile ograničene. Konstrukcija rešetnog stana također je unaprijeđena. Moderni sustavi omogućuju preciznu regulaciju frekvencije oscilacija, nagiba i protoka zraka, čime se postiže ravnomjerno raspoređena zračna struja i optimalno odvajanje frakcija mase. Kod aerodinamičko-oscilirajućih sustava lakši dijelovi smjese, poput pljeve, uklanjaju se po cijeloj dužini rešetnog stana, dok se teži dijelovi premještaju osciliranjem i propadaju kroz otvore sita. Povijesno gledano, povećanje kapaciteta kombajna postizalo se različitim konstrukcijskim rješenjima. Uz klasične tangencijalne vršidbene uređaje, razvijeni su sustavi s više bubnjeva te aksijalni i kombinirani tipovi vršidbe. Aksijalni sustavi omogućili su dulji put djelovanja mase, bolju iskoristivost centrifugalnih sila i veći stupanj odvajanja zrna od slame, pri čemu se gubici zrna smanjuju čak i pri većim protocima mase.

Osim mehaničkih poboljšanja, suvremeni kombajni opremljeni su naprednim kontrolnim i mjernim uređajima, uključujući GPS sustave za kartiranje uroda, nadzor gubitaka zrna, automatsku regulaciju protoka mase i povezivanje s računalima za pohranu i analizu podataka. Integracija svih ovih tehničkih rješenja rezultirala je značajnim poboljšanjima u kvaliteti žetve i čistoći sjemena. U usporedbi s ranijim tipovima žetvenih strojeva, suvremeni kombajni omogućuju bržu, učinkovitiju i precizniju obradu, uz znatno manji udio primjese i bolju prilagodbu različitim uvjetima rada. Josip Brčić u knjizi „Mehanizacija u biljnoj proizvodnji“ [127] također navodi da se 70-ih godina u uporabi kod individualnih poljoprivrednika upotrebljava dosta vršalica za vršenje pšenice s tim da ih ubrzano iz uporabe potiskuju kombajni. Pojava prvih kombajna s aksijalnom vršalicom počinje 1975. godine [142]. Više o tehnologiji žetve u prilogu 3.



Slika 12. Shema kombajniranja

Slika 12 prikazuje shematski prikaz kombajniranja kao jednofaznog načina žetve, u kojem su u jednome radnom procesu objedinjene osnovne operacije obrade usjeva. Iz središnjeg pojma izdvojene su glavne funkcionalne cjeline kombajna: košnja žitarica, vršidba, čišćenje i separacija, skupljanje zrna te odlaganje slame i pljeve. Uz svaku od tih faza prikazani su pripadajući dijelovi i mehanizmi, pa su tako uz košnju navedeni rezna aparatura, uz vršidbu udarno-bubanj i podbubanj, uz čišćenje i separaciju slamnjača, kaskadna sita i ventilator, uz skupljanje zrna spremanje zrna u bunkeru, a uz odlaganje slame i pljeve njihovo izbacivanje iz stroja. Shema jasno pokazuje da kombajn u jednom prolazu istodobno obavlja više radnih zahvata koji su se u starijim sustavima provodili odvojeno. Time se znatno povećava učinkovitost žetve, smanjuje potreba za dodatnim radom i ubrzava cjelokupni proces proizvodnje. Ovakav prikaz važan je jer omogućuje jasno razumijevanje funkcionalne povezanosti pojedinih dijelova kombajna i pokazuje tehnološku prednost kombajniranja u odnosu na višefazni način žetve.

1.5.6. Mlinovi i tehnologija mljevenja pšenice, od primitivnijih (vodenica) do suvremenijih mlinova

Razvoj mlinarstva može se pratiti od najprimitivnijih oblika prerade do industrijskih pogona (prilog 4 tablica 6S). Najstariji oblik mljevenja pšenice podrazumijevao je tucanje u kamenim avanima, prototipu mlinskog kamena. Mlinarstvo sredinom XX. stoljeća bilo je tehnološki heterogeno: postojali su istodobno primitivni seoski mlinovi i suvremeni industrijski pogoni. Kvaliteta brašna ovisila je o vrsti mlina, primijenjenom postupku i kvaliteti sirovine. Najveći napredak postignut je razvojem postupnog mljevenja pomoću valjaka i uvođenjem automatizacije, čime je otvoren put suvremenom mlinarstvu [144].

Vezano uz tehnološki razvoj mlinarstva i pekarstva, specifičnost zapadnog dijela Brodskog Posavlja, osobito naselja uz rijeku Savu i njezinu neposrednu blizinu, je pojava BEN-a u vrijeme dok su mlinovi bili pod zajedničkom upravom mještana više naselja. Prema arhivskim i drugim dostupnim izvorima, razvidno je kako se prerada (mljevenje) žitarica i kukuruza u 19. stoljeću na području današnjeg Jelas polja obavljana unutar ketuških mlinova i vodenica pokretanih snagom vode [145]. Mlinovi su se tada svrstavali u vodo-građevine jer su se u najvećem broju slučajeva nalazili na rijekama i uz rijeke, a mlinari su bili priznati obrtnici koji su dozvolu za rad dobivali od oblasnih vlasti kojima su dostavljali tehničke opise mlinova i nacрте radi provjere tehničkih svojstava i usklađenosti s propisima. Opis je sadržavao izgled mlina, način korištenja vode, katastarske podatke i susjedne mlinove. Priloženi su morali biti položajni, uzdužni i poprečni nacrti, kao i detalji gradnje (mlinska glava, brane, vodovodi). Ako je mlinski kanal prelazio preko tuđeg zemljišta, moralo se ishodovati pravo služnosti, a u nekim slučajevima plaćala se i „biljegovina“ [146]. Sam proces mljevenja započinjao je krupljenjem navlaženoga zrna na ožlijebljenim valjcima koji su odvajali endosperm od ostatka zrna. Slijedilo je razvrstavanje i čišćenje na planarnim sitima, usitnjavanje krupica na hrapavim i glatkim valjcima te konačna proizvodnja brašna. U tom procesu mogla je biti samljevena i biljka s AA, što je brašno činilo potencijalnim nositeljem ove štetne tvari [146].

1.5.6.1. Mlinarstvo na rijeci Savi

Mlinovi na Savi i Orljavi imaju višestoljetnu tradiciju i prisutnost na proučavanom području. Prvi zapisi potječu iz osmanlijskog doba, kada su mlinari plaćali porez u većim i manjim iznosima, ovisno o veličini rijeke [147]. Na području Brodskog Posavlja zabilježene su 1579. godine sljedeće vodenice: u Brodu četiri, u Dubočcu dvije [147]. Tradicija mlinarenja nije nestala s Osmanlijama jer su doseljeni graničari nastavili koristiti njihove mlinove i izrađivati nove, no rad se zbog, nemogućnosti pravilnog korištenja, morao prekidati u sušnim godinama ili tijekom velikih hladnoća (slika 13). U 18. stoljeću dolazi do pada broja vodeničarskih mlinova na rijeci Savi zbog regulacije, pa naredbom dolazi do uklanjanja mlinova i gradnje nasipa koji su služili za vuču lađa konjskom snagom [140, 149, 150]. U XIX. stoljeću mlinarstvo na Savi bilo je tema rasprava u Hrvatskome saboru, kada je dr. Makso Lončarević isticao gospodarsku važnost mlinova i tražio poboljšanje prometne povezanosti. On je u to vrijeme bio župnik u Dubočcu pa je iz prve je ruke svjedočio problemima do kojih je došlo [151], dok je dr. Iso Kršnjavi naglašavao njihovu važnost za seljačko gospodarstvo [152]. Mlinovi su radili neprekidno, a odredbe iz 1891., 1903. i 1914. godine izuzimale su mlinare od nedjeljnog počinka pa su mlinari mogli raditi sedam dana u tjednu [153, 154, 155].

1.5.6.2. Ketuški mlinovi

Posebnost ovog dijela Brodskog Posavlja su ketuški mlinovi. Ketuši su dioničari mlinova, vlasnici udjela u ketuškom mlinu, čija su prava i obveze definirana ugovorima. Mlinovi su okupljali najmanje dvadesetak ketuša, a poslovanjem je upravljao vojvoda ili starješina. Često je bio zaposlen mlinar koji je živio u mlinu, dok su ketuši dovozili pšenicu i plaćali ušur, postotak mljevenja [156, 157]. Zbog regulacije Save i povećanja prometa, mlinovi i vodenice prebačene su na rijeku Orljavu. Prema dostupnim podacima ondje su prvi mlinovi izgrađeni oko 1844. godine, a oko 1900. postojalo ih je devetnaest na potezu od ušća Orljave u Savu do Pleternice [150, 158]. Najviše je sačuvanih primarnih arhivskih izvora s područja općine Kobaš koja je pripadala Kraljevskoj kotarskoj oblasti u Oriovcu (1881. - 1886.) potom Brodu na Savi, u kojoj su aktivno djelovala tri ketuška mlina:

bebrinski, kutski i kaniški, prema mjesta iz kojih su bili ketuši, uz domaće ljude iz Kobaša [158].

Bebrinsko-banovački ketuški mlin

Bebrinski mlin radio je od sredine XIX. stoljeća, a prvi podaci datiraju iz 1858. godine. Mlin je moderniziran 1937. godine ugradnjom turbine. Mlin je prestao s radom početkom 1980-ih [159].

Kutski ketuški mlin

Kutski ketuški mlin spominje se sredinom XIX. stoljeća [160]. Mlin je moderniziran 1940., a kasnije je uveden parni pogon (vatrenka) [161]. Mlin je prestao raditi 1989. godine [158, 159].

Kaniški ketuški mlin

Kaniški mlin, najbliži Lužanima, radio je od druge polovice XIX. stoljeća. Između 1858. i 1867. nazivan je „Mollo Novak“, a potom je preimenovan u Kaniški ketuški mlin. Bio je aktivan sve do međuratnog razdoblja (slika 14) [160].

a)



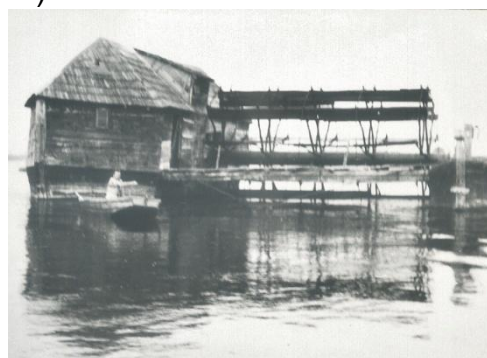
b)



c)



d)



Slika 13. a) vodenica na Dravi [162]; b) vodenica na Muri oko 1950. godine [163]; c) vodenica na Savi kraj sela Kaniža (Zavod za javno zdravstvo Brodsko-posavske županije) d) vodenica na Savi prva polovica XX. st. (Muzej Brodskog Posavlja, Zbirka fotografija MBP – 25990)



Slika 14. Unutrašnjost mlina u Kaniži
(Fotografija Marina Barić Gačić, 2026.)

Mlinovi na području endemskog područja obuhvaćali su vodenice do njihova nestanka kao i druge primitivnije seoske mlinove s mlinskim kamenom (slika 12) sve do izgradnje modernog mlina u Brodskom Stupniku 1989. godine većeg kapaciteta s planskim sitom velikog učinka, te silosa 2.400 tona za čuvanje žitarica izgrađenog 1958. godine koji iste godine započinje s radom (slika 15). U kontekstu BEN-e ovaj veliki silos doveo je do fenomena *dilucije* jer su se u ovom silosu čuvali usjevi s polja koja se nalaze u endemskom i neendemskom području što i u slučaju da koja sjemenka *Aristolochia clematitis* „promakne“ tijekom separacije, pridonosi značajnom smanjenju izloženosti AA-u koje postaje neznčajno. Razlike u lokalnoj i centraliziranoj preradi pšenice prikazane su u prilogu 4 tablici 7S.



Slika 15. Silos i mlin u Brodskom Stupniku (Fotografija Ivan Brzić, 2025.)

1.5.6.3. Tehnološki razvoj i modernizacija mlinarstva

U drugoj polovici XIX. stoljeća mlinarstvo ulazi u razdoblje temeljite tehničke i organizacijske transformacije. Tradicionalni oblici mljevenja, koji su stoljećima počivali na primjeni mlinskog kamenja i pogonu vodom ili vjetrom, postupno su zamijenjeni mehaniziranim sustavima temeljenima na valjkastim mlinovima. Ovaj tehnološki skok predstavljao je prekretnicu u povijesti prerade žitarica i jedan od ključnih koraka prema formiranju moderne prehrambene industrije [164]. Tehnološki procesi koji su korišteni u svijetu, s odmakom vremena primjenjivani su i u endemskom području, a njihov detaljniji prikaz nalazi se u prilogu 5.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZA

Glavni cilj

Analizirati promjene prevalencije Balkanske nefropatije između vremenskoga perioda kada su korišteni mali lokalni mlinovi u kojima su seljaci mljeli vlastitu pšenicu i kada su koristili određenu opremu za čišćenje mase zrna koja nije bila dovoljno dobra u odvajanju sjemenki korova i vremenskoga perioda nakon što su uvedeni moderni strojevi, herbicidi i suvremena mlinarska tehnologija.

Specifični ciljevi

1. Odrediti dolazi li do pada prevalencije Balkanske nefropatije i može li se prema trendu pretpostaviti potpuni nestanak ove bolesti.
2. Odrediti promjene incidencije novih bolesnika s Balkanskom nefropatijom koji počinju liječenje hemodijalizom u lokalnoj bolnici u Slavonskom Brodu i novih bolesnika koji su operirani u toj bolnici zbog karcinoma prijelaznog epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava, a živjeli su više od 15 godina u endemskom području.
3. Odrediti učestalost drugih faktora rizika za kroničnu bubrežnu bolest (arterijska hipertenzija, šećerna bolesti, pretilost, dislipidemije) i usporediti karakteristike seoskog stanovništva endemskog žarišta s karakteristikama seoskog stanovništva u regijama gdje nema dokazane Balkanske nefropatije.
4. Proučiti ekologiju vrste *Aristolochia clematitis* na temelju vegetacijskih snimki, te istražiti širinu ekološke niše i njezinu diferencijaciju na cijelom području rasprostranjenosti vrste, koristeći Indeks ekološke specijalizacije (ESI) vrste, te analizirati područje regija uključenih u ovo istraživanje.

5. Odrediti prisutnost biljke vučja stopa (*Aristolochia clematitis*) na poljoprivrednim površinama na kojima se uzgajaju žitarice u endemskom području i usporediti ju s pojavnošću na poljoprivrednim površinama na kojima se uzgajaju žitarice u neendemskim područjima.
6. Odrediti koncentraciju aristolohične kiseline u žitu i tlu poljoprivrednih površina endemskoga i neendemskoga područja.
7. Analizirati razlike u poljoprivrednoj i mlinarskoj tehnologiji te gospodarenju pšenicom i brašnom između dva vremenska perioda, (period prije 1970.godine i period nakon 2005. godine) u endemskim i neendemskim selima.

Hipoteza istraživanja

Napredak u tehnologiji žetve (vršenje, separacija) koji se dogodio prije 60-ak godina smanjio je izloženost aristolohičnoj kiselini zbog manje konzumacije aristolohičnom kiselinom kontamiranoga kruha što za posljedicu ima pad prevalencije Balkanske nefropatije.

3. ISPITANICI I METODE

Ova doktorska disertacija obuhvaća dva područja istraživanja. Prvo područje je epidemiološko-kliničko istraživanje u kojem se analiziraju promjene prevalencije BEN-a ovisno o načinu primjenjivanih poljoprivrednih i mlinarskih tehnologija, te usporedba obilježja stanovnika endemskih sela s obilježjima stanovnika sela izvan endemskoga područja s ciljem utvrđivanja postojanja razlika u ostalim čimbenicima rizika za KBB. Drugo područje vezano je za analize promjena poljoprivredne i mlinarske tehnologije, te utvrđivanje postoje li razlike prisutnosti biljke *Aristolochia clematitis* na poljima u endemskom području u odnosu na neendemska područja, uz analize koncentracije AA-a u sjemenkama pšenice i tlu. Zbog toga je i opis ispitanika i metoda podijeljen u dva dijela.

3.1. Epidemiološko-klinički dio istraživanja

U ovaj dio istraživanja uključeni su ispitanici iz dva velika znanstveno-istraživačka projekta: (i) projekt Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta br. 108-0000000-0329 „Endemska nefropatija u Hrvatskoj - epidemiologija, dijagnostika i etiopatogeneza (ENAH)“ (ii) projekt „Epidemiologija hipertenzije i unos kuhinjske soli u Hrvatskoj (EHUH 2)“, financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost, IP-2016-06-9033. Oba projekta bila su pod voditeljstvom akademika Jelakovića.

3.1.1. Odabir ispitanika, klinički pregled i upitnici

3.1.1.1. Odabir ispitanika za određivanje prevalencije *Balkanske nefropatije*

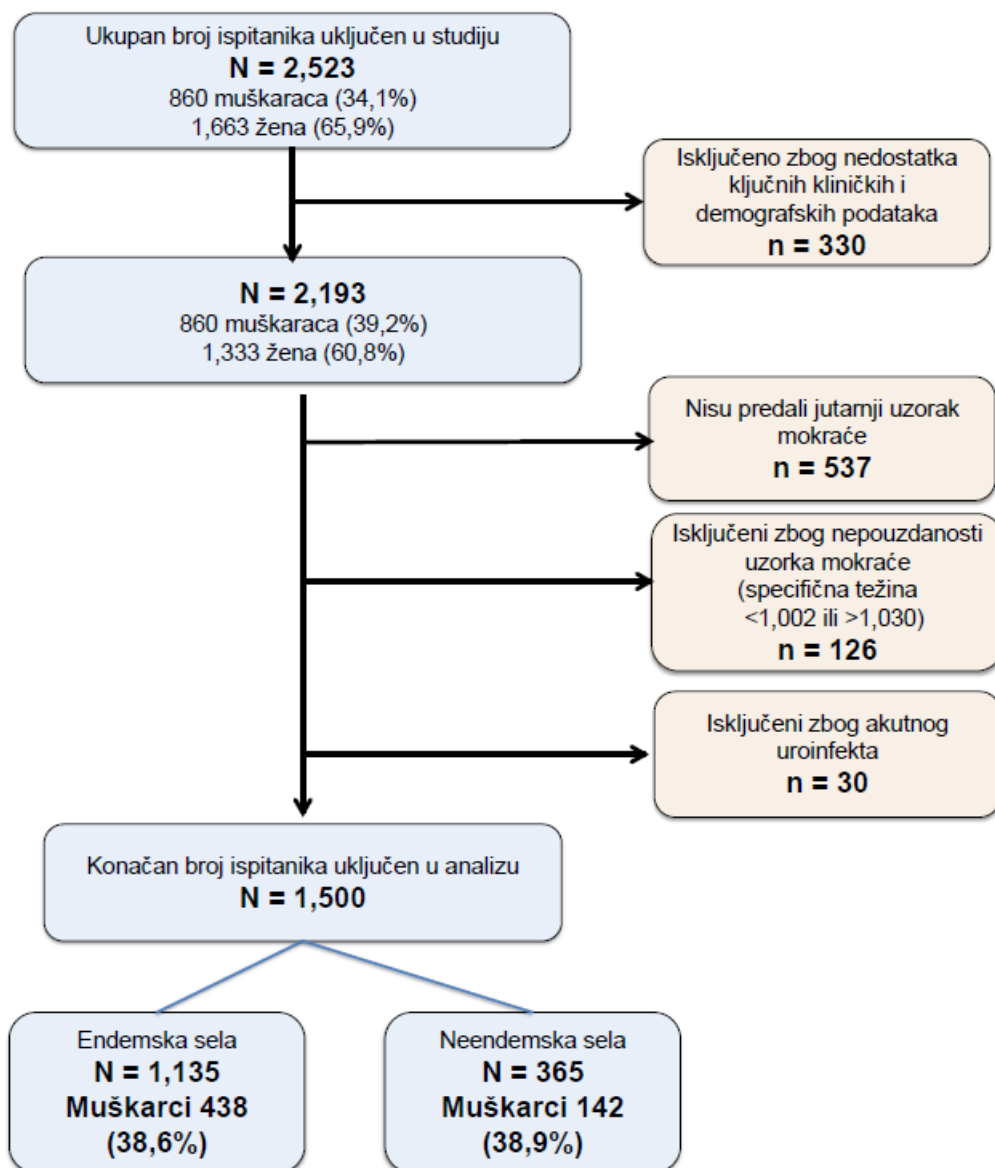
U ovom dijelu analiza korišteni su podaci prikupljeni u projektu „Endemska nefropatija u Hrvatskoj - epidemiologija, dijagnostika i etiopatogeneza“. U terenskom istraživanju tzv. „perlustracijama“ ukupno je uključeno 2523 punoljetna stanovnika iz devet endemskih sela: Kaniža, Bebrina, Banovci, Slavonski Kobaš, Živike, Pričac, Šumeće, Zbjeg i Dubočac, te tri kontrolna sela: Klakar, Donja Bebrina i Rastušje (tablica 3). U istraživanju su sudjelovali liječnici, medicinske sestre i tehničari Zavoda za arterijsku hipertenziju, nefrologiju, dijalizu i transplantaciju Medicinskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu Klinike za unutarnje bolesti te Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskom Brodu i Zavoda za javno

zdravstvo Brodsko – posavske županije, te liječnici obiteljske medicine iz Slavonskog Kobaša, Bebrine i Lužana. Istraživanje je započelo nakon dobivenih etičnih odobrenja nadležnih institucija, održanih javnih tribina u endemskim selima, te uz potpisani informirani pristanak ispitanika. Svi punoljetni stanovnici ispitivanih sela su dobili na kućnu adresu termin ambulantnog pregleda uz uputu o mogućnosti dogovora i dobivanje informiranoga pristanka za sudjelovanje. U provedbenom smislu istraživanje je podijeljeno u dva dijela, prvi u mjesnoj ambulanti te drugi u kućama stanovnika. Prvi dio se sastojao od kliničkog pregleda, osobne i obiteljske anamneze, uzimanja uzorka krvi natašte i drugoga jutarnjeg uzorka mokraće te ultrazvučnog pregleda urotrakta. Odmah po uzorkovanju uzorci su pripremljeni i pohranjeni na suhom ledu, te transportirani u Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkoga bolničkog centra Zagreb gdje su po primitku analizirani. U drugom dijelu istraživanja liječnici su „od vrata do vrata u domaćinstvima sela“, ujednačenom metodom provodili detaljan epidemiološki upitnik i mjerili AT. Ispitivači su u nekoliko navrata obilazili domaćinstva ukoliko su ukućani bili odsutni. Uzorci i upitnik ispitanika su bili šifrirani unaprijed definiranim jedinstvenim šesteroznamenkastim identifikacijskim kodom. Istraživanje je obuhvatilo značajan i usporediv postotak ispitanika iz pojedinog sela u odnosu na prethodne perlustracije (tablica 4).

Tablica 4. Udio stanovništva iz pojedinog sela uključen u istraživanje

Selo	Područje	Punoljetno stanovništvo (N)	Pregledano stanovništvo N (%)
Slavonski Kobaš	endemsko	893	750 (84)
Živike	endemsko	183	125 (68)
Pričac	endemsko	76	63 (83)
Kaniža	endemsko	561	297 (53)
Bebrina	endemsko	350	203 (58)
Banovci	endemsko	250	149 (60)
Šumeće	endemsko	415	330 (80)
Zbjeg	endemsko	336	231 (69)
Dubočac	endemsko	163	131 (80)
<i>Ukupno endemsko</i>		3.227	2.279 (70,6)
Donja Bebrina	neendemsko	317	227 (72)
Klakar	neendemsko	201	181 (90)
Rastušje	neendemsko	219	135 (62)
<i>Ukupno neendemsko</i>		737	543 (73,6)
Ukupno		3.964	2.822 (71,1)

Od ukupnog broja od 2822 ispitanika, 299 nije potpisalo suglasnost te su isključeni iz istraživanja. Na slici 16 prikazan je dijagram uključivanja konačnog broja od 1500 ispitanika.



Slika 16. Dijagram uključivanja ispitanika u ENAH projektu

3.1.1.2. Metode – Klinički pregled, definicije i upitnik

Tijekom kliničkoga pregleda izmjerena je tjelesna visina, tjelesna masa, određen indeks tjelesne mase (ITM), te izmjeren AT. Prema smjernicama Europskog društva za hipertenziju [165] AT je mjeren tri puta Omron digitalnim tlakomjerom s odgovarajućom manžetom u sjedećem položaju nakon 5 minuta odmora i srednja vrijednost zadnja dva mjerenja je smatrana konačnom vrijednošću. Arterijska hipertenzija je definirana kao vrijednost AT $\geq 140/90$ mmHg i/ili korištenje antihipertenzivne terapije. Šećerna bolest je dijagnosticiran ukoliko su vrijednosti glukoze natašte bile veće od 7 mmol/L i/ili korištenje antidiijabetičke terapije. Glomerularna filtracije procijenjena je pomoću 2012 CKD-EPI jednadžbe [75]. Vrijednosti eGFR ispod 60 ml/min/1,73m² su bile granične za postavljanje dijagnoze KBB-a, a stadiji KBB-a su definirani prema KDIGO smjernicama. Oštećenje proksimalnog tubula je smatrano prisutnim ukoliko je vrijednost $\alpha 1$ mCR bila veća od 31,5 mg/g kreatinina u urinu. U istraživanju je korišten ultrazvučni aparat Siemens Sonoline SI 250 s konveksnom sondom od 3,5 MHz za analiziranje morfologije bubrega, te mjerenje duljine bubrega. U svrhu ispitivanja nekadašnje i sadašnje izloženosti AA-u pripremljen je epidemiološki upitnik koji sadržava demografske podatke, podatke o bolestima i navikama, te podatke o izloženosti potencijalnim nefrotoksinima s posebnim naglaskom na izloženost AA-u putem prehrane, kao i podatke o promjenama načina života koje su mogle dovesti do promjene u izloženosti toksinu usporedbom perioda prije 1970. godine i nakon 2005. godine. Pitanja iz upitnika koja su analizirana u ovom radu su podijeljena u podskupine: (i) socio–demografski podaci i podaci o porodici tj. kućanstvu (ii) podaci o navikama (npr. pušenje); (iii) podaci o sijanju pšenice, načinu obrade, vršidbi, stanju polja prije 1970. godine i nakon 2005. godine (iv) podaci o viđanju *Aristolochia clematitis* (vučja stopa) na poljima i njenih sjemenki među sjemenkama žita namijenjenim za brašno prije 1970. godine i nakon 2005. godine; (v) podaci o mljevenju brašna, pripremi te konzumaciji kruha prije 1970. godine i nakon 2005. godine. Kako bi se ispitale tehnološke promjene i promjene u načinu života koje su mogle dovesti do smanjivanja izloženosti AA-u, analizirali smo imaju li stanovnici sela u istoj mjeri polja i siju li pšenicu, da li je došlo do promjena uporabe herbicida, kombajna, viđanja korova na poljima i promjena u nabavci brašna i kruha sada u odnosu na prije 1970. godine i nakon 2005. godine. Također smo

analizirali postoji li razlika u viđanju *Aristolochia clematitis* (vučja stopa) i njenih sjemenki među sjemenkama namijenjenim za brašno u endemskim selima sada u odnosu na period prije 1970. godine i nakon 2005. godine. Pitanja iz upitnika čine logički slijed dokaza o potencijalnoj, nekadašnjoj izloženosti AA-u, a značajni povijesni događaji života seljaka (vodovod, mlin, komasacija, nasip) su korišteni kao vremenska okosnica tijekom ispitivanja o periodu prije 1970. godine i nakon 2005. godine. Izloženost AA-u je definirana potvrdnim odgovorom na pitanje o viđanju *Aristolochia clematitis* na poljima i viđanju sjemenki *Aristolochia clematitis* među sjemenkama namijenjenim za brašno. S ciljem povećanja osjetljivosti i specifičnosti prisjećanja *Aristolochiae clematitis* (vučje stope), kao i nepristranosti u odgovorima, dizajnirano je pet fotografija u boji veličine A4 (20 x 25 cm) s fotografijama korova i njihovih sjemenki koje je ispitanik prvo imenovao, a potom navodio da li je neke od njih viđao i gdje ih je viđao. Osim *Aristolochia clematitis* (vučja stopa), ostali slikovno prikazani korovi su bili: *Ambrosia artemisiifolia* (ambrozija), *Agropyron repens* (pirika), *Echinochloa crus-galli* (koštan) i *Galium aparine* (sapijač).

3.1.1.3. Određivanje prevalencije i praćenje promjena ovisno o promjenama tehnologije

Kako bi se napravila analiza kretanja prevalencije bolesti u hrvatskome žarištu kroz vremenski period od tridesetak godina populacija je klasificirana i pomoću modificiranih kriterija SZO-a iz 1965. godine [2]. Dijagnoza BEN-a prema modificiranim SZO kriterijima iz 1965. godine je postavljena ukoliko su prisutni svi sljedeći elementi: a) pozitivna obiteljska ili anamneza domaćinstva na BEN; b) proteinurija (α_1 mCR > 14 mg/g ili α_1 mg > 10 mg/L) c) anemija (Hgb muškarci <120 g/l, žene <113 g/l); d) azotemija (serumski kreatinin > 132,6 μ mol/l) ili kombinacija b+c+d ili a+b+c uz isključenje ostalih uzroka bubrežne bolesti. Osoba se proglašava sumnjivom da boluje od BEN-a ukoliko su ispunjeni a+b ili b+c, a ugrožene osobe su one koje žive u kućanstvima gdje je bilo oboljelih od BEN-a, to jest gdje je porodična anamneza pozitivna. Prevalencija BEN-a je izražena u obliku postotka, a vrijednosti su dobivene dijeljenjem oboljelih od BEN-a i ukupnog broja stanovnika pojedinog endemskog sela prema važećem popisu stanovništva iz 2011. godine [166].

3.1.1.4.Određivanje promjena incidencije novih bolesnika liječenih dijalizom

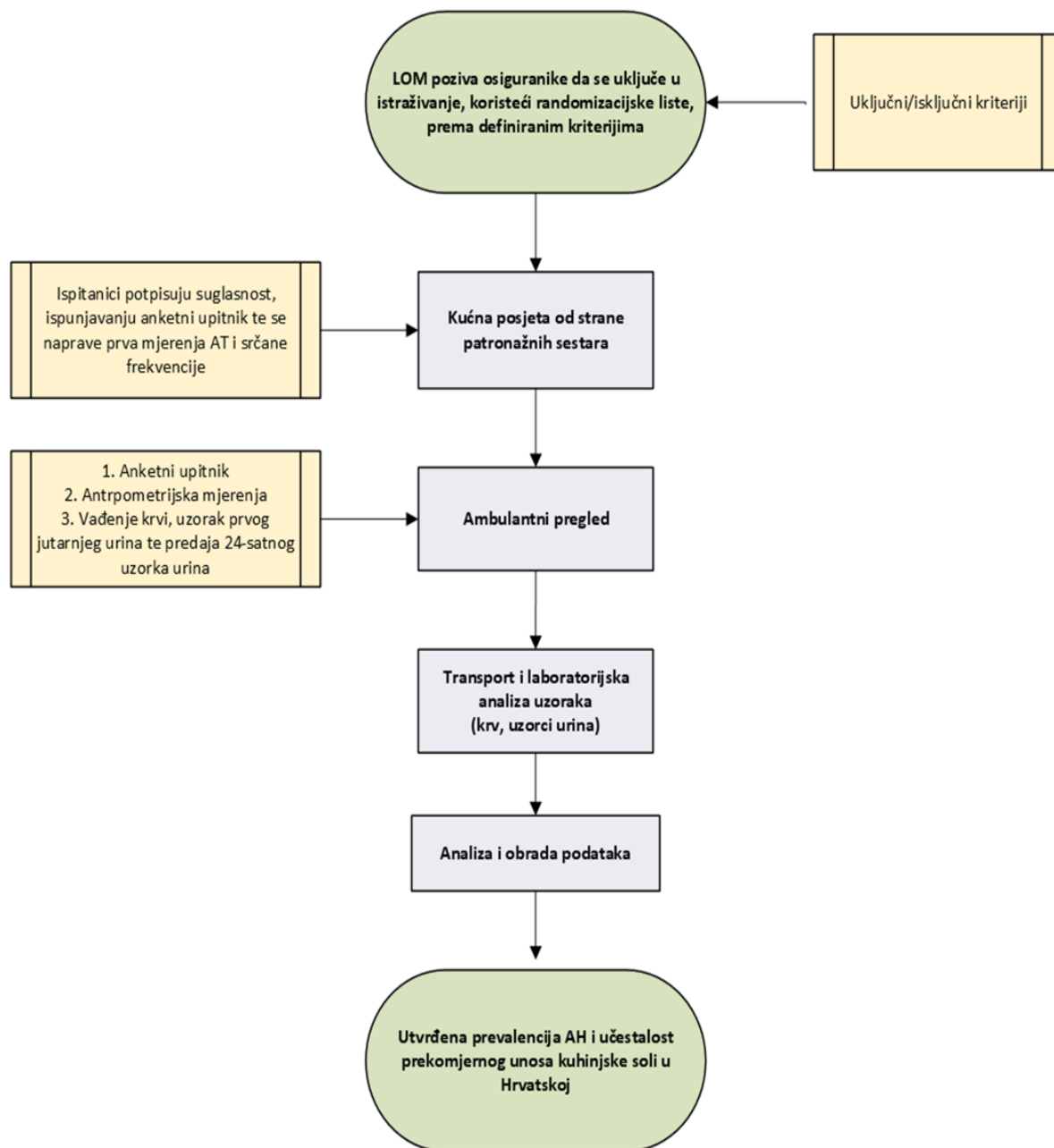
Podaci za ovu analizu prikupljeni su iz arhive Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskome Brodu. Po godinama je analiziran broj bolesnika koji su počeli s liječenjem hemodijalizom zbog BEN-a i broj bolesnika koji su operirani s dijagnozom UUC-a, a živjeli su u endemskom kraju dulje od 15 godina.

3.1.1.5.Određivanje učestalosti drugih faktora rizika za kroničnu bubrežnu bolest i usporedba obilježja ispitanika endemskoga kraja s obilježjima drugih seoskih sredina u Hrvatskoj

U ovom dijelu analiza korišteni su podaci prikupljeni u projektu „Epidemiologija hipertenzije i unos kuhinjske soli u Hrvatskoj, EHUH 2“ . U istraživanje su bili uključeni liječnici obiteljske medicine s popisa liječnika ugovorenih djelatnosti opće obiteljske medicine Hrvatskoga zavoda za zdravstveno osiguranje, koji su analizirali i pregledali ispitanike uključene u istraživanje. Ispitanici stariji od 18 godina bili su pozvani da sudjeluju u istraživanju nasumičnim odabirom iz opće populacije pomoću randomizacijskih listi, kreiranih putem računalnoga programa za randomizaciju. Randomizacijska lista bila je podijeljena u šest kategorija ovisno o broju osiguranika (BO) u ordinaciji pojedinog liječnika obiteljske medicine (<500 , $501<BO<1000$, $1001<BO<1500$, $1501<BO<2000$, $2001<BO<2500$ i $2501<BO<3000$). Liječnik obiteljske medicine odabrao je kategoriju koja odgovara njegovom broju osiguranika te iščitao brojeve s randomizacijske liste koji predstavljaju brojeve kartona osiguranika. Osiguranike odabrane randomizacijskom listom liječnik je telefonski pozvao te uključio u istraživanje ovisno o isključujućim i uključujućim kriterijima. Randomizacijski postupak te način primjene isključivih i uključenih kriterija osigurao je da uzorak u ovom istraživanju bude slučajan. *Uključeni i isključni kriteriji* su bili isti kao u ranije navedenom istraživanju, osim što je u EH-UH 2 projektu dodatni kriterij bila COVID – 19 infekcija unutar zadnja 3 mjeseca.

3.1.1.5.1. Tijek istraživanja, metode i upitnik

U EHUH 2 istraživanju ako ispitanik nije ispunjavao isključne/uključene kriterije ili ukoliko je odbio sudjelovati u istraživanju, liječnik je odabrao sljedećeg ispitanika kojeg je telefonski pozvao na sudjelovanje u istraživanju. Prilikom telefonskog razgovora liječnik obiteljske medicine ispitaniku je objasnio ciljeve istraživanja, zatražio usmenu suglasnost za sudjelovanje u istraživanju te najavio dolazak patronažne sestre u kućnu posjetu. Tijekom kućne posjete ispitanici su potpisali suglasnost o sudjelovanju u istraživanju. Nakon što su sudionici uključeni u istraživanje, medicinske sestre, članice mobilnog tima za preglede (engl. *Medical Examination Team*, MET) dogovorile su termin kućne posjete nakon čega je svaki ispitanik bio pozvan na ambulate preglede. Ambulantni pregledi organizirani su u proljetnim i jesenskim mjesecima, petkom i subotom. Ambulantni pregledi sastojali su se od tri glavna dijela: (a) anketni upitnik, (b) fizikalna, antropometrijska mjerenja i (c) vađenje krvi, prikupljanje prvoga jutarnjeg urina i predaja uzorka 24-satnog urina. Medicinske sestre, liječnici, ljekarnici, specijalizanti i studenti medicine koji su bili članovi MET-a bili su educirani za prikupljanje kliničkih i istraživačkih podataka na standardiziran način (slika 17).



Slika 17. Dizajn EHUH 2 istraživanja

Nakon uključanja ispitanika u istraživanje od strane liječnika obiteljske medicine, patронаžne sestre su u dogovoru s ispitanicima dogovorile termin kućne posjete. Po završetku kućnih posjeta ispitanici su bili pozvani na ambulantne preglede. 1) Kućna

posjeta i ambulantni pregled. Tijekom kućne posjete ispitanik je potpisao pismenu suglasnost za sudjelovanje u istraživanju. Nakon potpisivanja pismene suglasnosti za sudjelovanje, svakom je ispitaniku dodijeljen osobni identifikacijski kod radi anonimizacije, te su obavljena prva mjerenja AT-a i srčane frekvencije. Osnova prikupljanja podataka bio je strukturirani anketni upitnik. Svi prikupljeni podaci upisani su u Microsoft Excel (Microsoft), pročišćeni i pohranjeni u bazu. Ispitanici su za vrijeme kućne posjete dobili upute o pravilnom prikupljanju i rukovanju urinom tijekom 24-satnog razdoblja, te upute da budu natašte 12 sati prije pregleda na kojem će se uzeti uzorci krvi. Na kraju kućnih posjeta, ispitanici su bili pozvani na ambulantne preglede. Nakon završene kućne posjete svi uključeni ispitanici pozvani su na ambulantne preglede koji su se održavali u proljetnim (ožujak – lipanj) i jesenskim (rujan – studeni) mjesecima u periodu od 8 do 13 h (petkom i subotom). Provodili su se u tri koraka: (a) anketni upitnik, (b) fizikalna, antropometrijska mjerenja i (c) vađenje krvi, prikupljanje uzorka jutarnjeg urina i predaje 24-satnog uzorka urina. Ambulantni pregledi ispitanika obuhvaćali su sljedeće: ispunjavanje anketnog upitnika, mjerenje antropometrijskih podataka ispitanika (OMRON dijagnostička vaga BF 511, Kyoto, Japan), mjerenje brahijalnoga AT-a, centralnoga AT-a i krutosti velikih krvnih žila (PWV, uređaj IEM Mobil-O-Graph PWA, Stolberg, Njemačka), snimanje elektrokardiograma (EKG), te vađenje krvi, prikupljanje jutarnjeg urina i preuzimanje 24-satnog urina. Sve laboratorijske analize napravile su se u centralnome laboratoriju u KBC Zagreb, istom koji je korišten i u perlustracijama. Osiguran je adekvatan transport uzoraka (nakon centrifugiranja uzorci su čuvani na suhom ledu u kutijama od stiropora) kako bi u laboratorij KBC-a Zagreb stigli u odgovarajućem stanju. Anketni upitnik korišten je za prikupljanje podataka o: demografskim podacima ispitanika (dob, spol, mjesto stanovanja), socioekonomskom statusu (SES), životnim stilovima (tjelesna aktivnost, pušenje, konzumacija alkohola, prehrana) uključujući i učestalost konzumacije hrane s visokim udjelom kuhinjske soli, znanju o prehrambenoj soli, osobnoj i obiteljskoj anamnezi za kardio-reno-metaboličke bolesti, terapiji lijekovima, kućnoj i ambulantnoj posjeti, te upitnika za liječnike. Mjerenje AT-a, tjelesne visine i mase vršeno je na isti način kao u ENAH istraživanju.

3.1.1.5.2. Laboratorijske metode

U oba istraživanja korištene su iste metode i analize su vršene u istom laboratoriju u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkoga bolničkog centra Zagreb. Od bioloških uzoraka od ispitanika su se za potrebe istraživanja uzimali uzorak prvog i drugog jutarnjeg urina te uzorak 24-satnog urina i uzorak krvi na tašte. Svakom ispitaniku je izvađeno 20 ml krvi natašte, od čega 10 ml u epruvetu s EDTA za određivanje crvene krvne slike, a 10 ml u epruvetu sa smolom za biokemiju. Ispitanici su dobili upute da budu 12 sati natašte prije ambulantnog pregleda na kojemu im se izvukla krv iz vene. Svi niže navedeni biokemijski parametri mjereni su na uređaju Cobas c 501, Roche (Roche, Basel, Švicarska). Za određivanje biokemijskih parametara koristile su se sljedeće mjerne metode: urati: fotometrija s urikazom i askorbat-oksidadom standardizirana prema ID/MS-u; uređaj: Cobas c 501, Roche kreatinin: enzimatska s kretinazom standardizirana prema ID/MS-u glukoza: UV fotometrija s heksokinazom standardizirana prema ID/MS-u, uređaj kolesterol: fotometrija s kolesterol-oksidadom (CHOD-PAP) standardizirana prema ID/MS-u trigliceridi: fotometrija s glicerofosfat-oksidadom (GPO-PAP) standardizirana prema ID/MS-u HDL kolesterol: enzimatska homogena s modificiranim polietilen-glikolom (PEG) i alfa-ciklodekstran-sulfatom standardizirana prema CDC referentnoj metodi, uređaj LDL kolesterol: homogena enzimatska kolorimetrija ili računski prema Friedewaldu ako je koncentracija triglicerida manja od 4 mmol/L i ako nisu prisutni hilomikroni albumin: nefelometrija standardizirana primarnim ERM-DA470 kalibratorom i sekundarnim master-kalibratorom, uređaj: BN Prospec nephelometer, Siemens; kalij: indirektna potenciometrija standardizirana primarnim kalibratorom, uređaj natrij: indirektna potenciometrija standardizirana primarnim kalibratorom kalcij: fotometrija s NM-BAPTA standardizirana SRM 956c referentnim materijalom razine 2 anorganski fosfati: fotometrija UV s amonij-molibdatom standardizirana prema NERL primarnom referentnom materijalu. Albumin i α -1-mikroglobulin u mokraći određivani su iz drugoga jutarnjeg uzorka lateks - imunonefelometrijskom metodom standardiziranom primjenom primarnog kalibratora ERM-DA470 na uređaju Behring Nephelometer Analyzer II uz osjetljivost metode od 3,0 mg/L za albumin i 0,4 mg/dL za alfa-1-mikroglobulin. Ispitanici su podijeljeni u tri skupine ovisno o omjeru albumin/kreatinin u urinu (ACR): A) <30 mg/g; B) >30 i <300 mg/g; C)

>300 mg/g. Prema omjeru α -1 mikroglobulina i kreatinina podijeljeni su u dvije grupe (α -1CR <31.5 mg/g versus >31.5 mg/g).

3.2. Istraživanja vezana uz distribuciju/prisutnost biljke *Aristolochia clematitis* na poljima (određivanje niše), utvrđivanje prostornog korištenja zemljišta kod skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi i određivanje prisutnosti aristolohične kiseline u tlu i pšenici

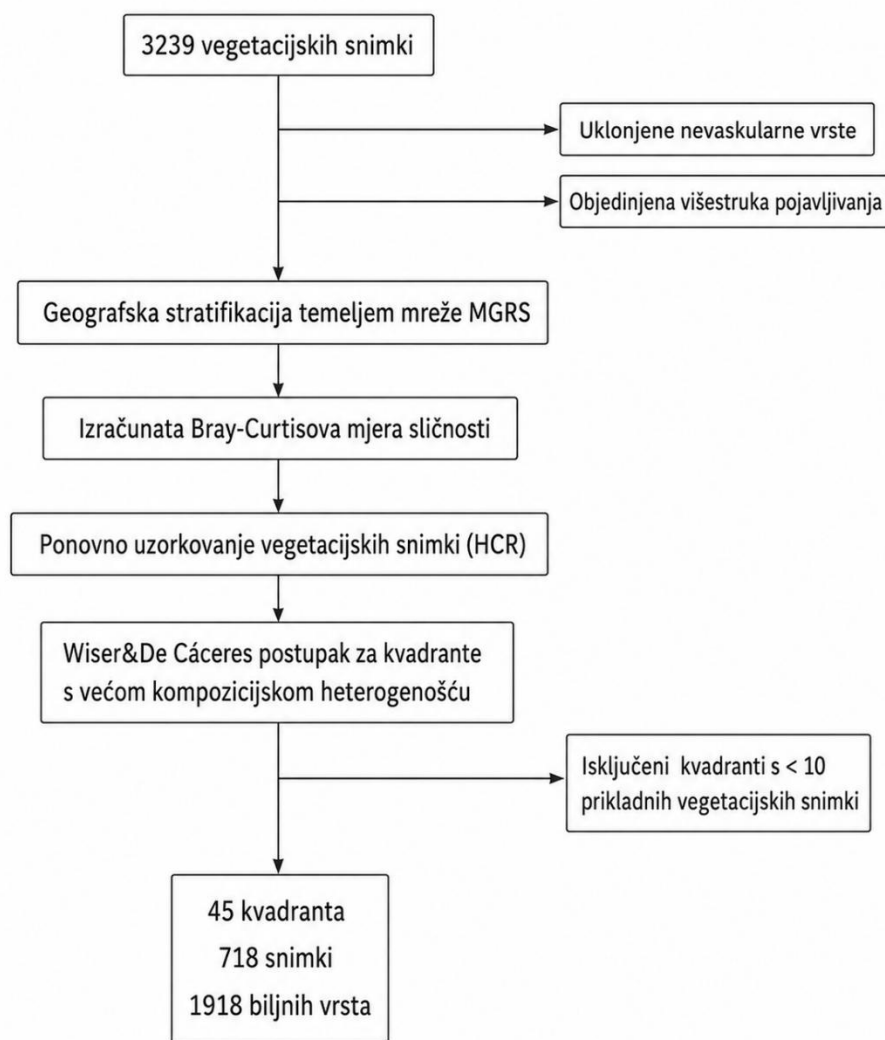
3.2.1. Definiranje ekološke niše vrste *Aristolochia clematitis* na cijelom arealu

Definiranje ekološke niše je obavljano analizom uzoraka stvarnog pojavljivanja vrste u različitim staništima te kvantificiranjem širine i diferencijacije njezine ekološke prilagodbe. Istraživanje je provedeno u tri temeljna koraka: (1) opis ekološke niše pomoću okolišnih i vegetacijskih pokazatelja, (2) analiza stupnja ekološke specijalizacije primjenom indeksa ESI, i (3) usporedba karakteristika niše između rubnih i središnjih dijelova areala vrste.

1. Vegetacijske snimke i priprema podataka

Osnovni podaci za analizu ekološke niše prikupljeni su iz Europskog vegetacijskog arhiva [167] gdje je 9. studenog 2022. preuzeto ukupno 3.239 vegetacijskih snimki koje dokumentiraju prisutnost vrste *Aristolochia clematitis*. Vegetacijske snimke definiraju sastav vaskularne flore na standardiziranoj površini, uz procjenu pokrovnosti svake vrste prema klasičnoj srednjoeuropskoj fitocenološkoj metodi [168]. Za potrebe homogenizacije baze podataka iz svake snimke uklonjene su nevaskularne vrste, dok su višestruka pojavljivanja istih vaskularnih biljaka u različitim vegetacijskim slojevima objedinjena u jedan zapis. Kako bi se smanjio efekt prekomjernog uzorkovanja iz ekološki sličnih područja, provedena je geografska stratifikacija temeljem mreže MGRS (*Military Grid Reference System*), gdje su četiri osnovna kvadranta veličine 100 km spojena u kvadrante 200 × 200 km na kojima su rađene analize [169]. Ova gruba prostorna rezolucija omogućila je uključivanje većeg dijela areala vrste u analizu, izbjegavajući isključivanje slabo uzorkovanih regija koje bi pri finijoj rezoluciji bile eliminirane. Za svaki takav kvadrant izračunata je Bray-Curtisova mjera sličnosti između svih parova vegetacijskih snimki [170] te je primijenjena metoda ponovnog uzorkovanja vegetacijskih snimki (*Heterogeneity*-

constrained random resampling – HCR [171], kojom se bira podskup snimki koji maksimizira taksonomsku raznolikost. U kvadrantima s većom kompozicijskom heterogenošću odabran je veći broj snimki [5-20], sukladno preporuci autora Wiser & De Cáceres [172]. Rezultirajući „cjelokupni skup podataka“ sadrži 851 vegetacijsku snimku i 2.168 biljnih vrsta te je korišten za opis ukupne ekološke niše vrste *Aristolochia clematitis* (slika 18).



Slika 18. Dijagram odabira kvadranta za analizu ekološke niše

MGRS= Military Grid Reference System; HCR= Heterogeneity-constrained random resampling

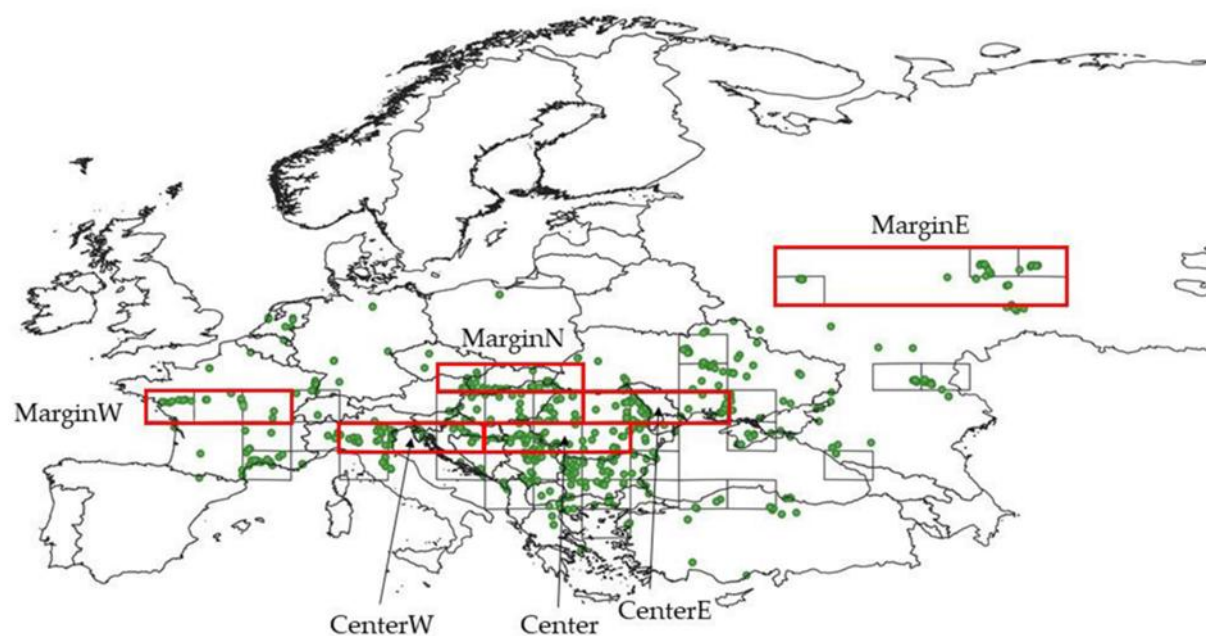
2. Indeks ekološke specijalizacije (ESI) i analiza diferencijacije niše

Diferencijacija realizirane ekološke niše između različitih geografskih regija procijenjena je pomoću indeksa ekološke specijalizacije (ESI) [173]. Ova metoda koristi multiplikativnu beta-raznolikost za mjerenje sličnosti vrsta koje se supojavljaju s analiziranom vrstom. Prema teoriji Fridleyja i suradnika [174] specijalističke vrste imaju tendenciju pojavljivanja unutar stabilnih zajednica s ponavljajućim skupinama vrsta, dok se generalističke vrste javljaju unutar taksonomski raznolikih zajednica s visokom fluktuacijom sastava. U analizi je korišten softver R [175] i „theta“ biblioteka [176], a ESI je računan samo za kvadrante koji su sadržavali najmanje deset prikladnih vegetacijskih snimki, čime su u analizu uključena 45 kvadranta, ukupno 718 snimki i 1.918 biljnih vrsta. Za dodatnu usporedbu ekoloških obrazaca u središnjim i perifernim dijelovima areala odabrana je središnja regija i tri rubne (istočna - I, sjeverna - S i zapadna - Z). Južnu rub areala nije analiziran zbog malog broja podataka u tom području. Svaka regija definirana je nizom od triju uzdužno spojenih kvadranta (slika 19).

3. Okolišni podaci i indikatori staništa

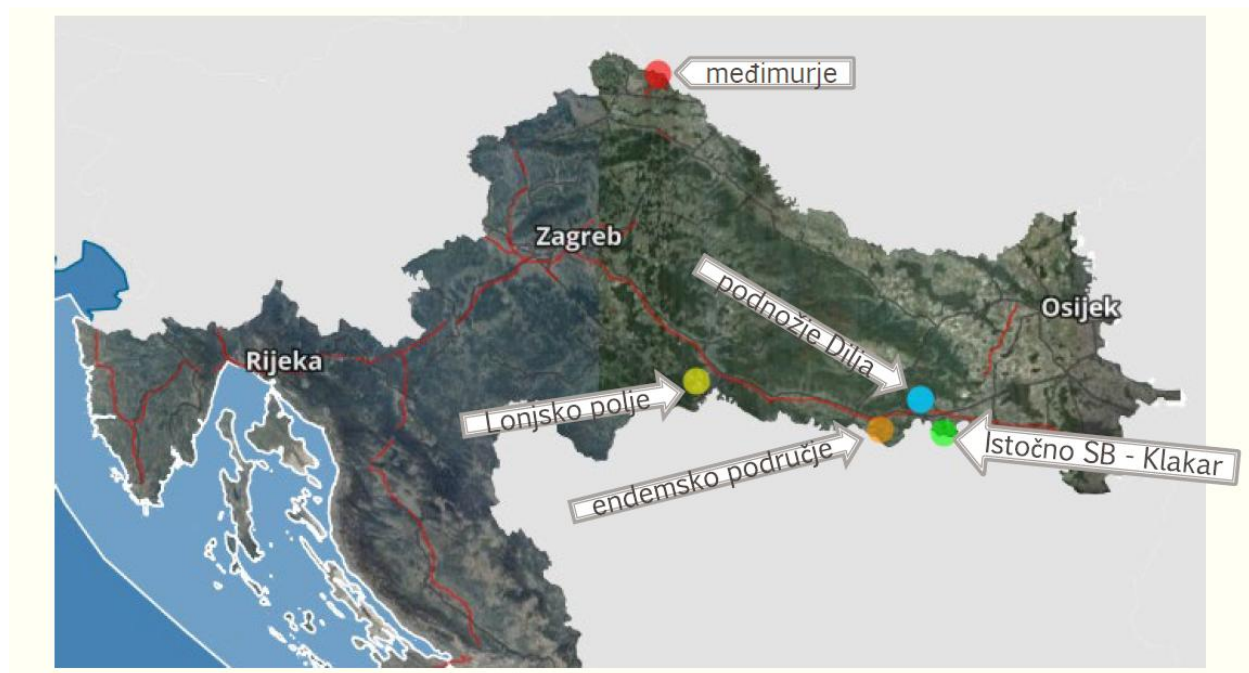
Vegetacijske snimke klasificirane su prema EUNIS tipu staništa (3. hijerarhijska razina), koristeći ekspertni sustav EUNIS-ESy v. 2024-06-01 [177], te dodatno prema vegetacijskim razredima iz EuroVegCheckliste (96. Makroklimatski uvjeti za svaku snimku određeni su pomoću 19 bioklimatskih varijabli iz baze CHELSA v2.1 [178]. Za kvantificiranje mikrostanišnih karakteristika korištene su Ellenbergove indikatorske vrijednosti (EIV) za svjetlost, vlagu, temperaturu, pH i hranjive tvari [179] dok su antropogeni pritisci procijenjeni pomoću indikatora poremećaja staništa [180], uključujući ukupnu jačinu poremećaja, poremećaj tla, intenzitet ispaše i intenzitet košnje. Ellenbergove indikatorske vrijednosti predstavljaju ordinalne ekološke indekse koji biljnim vrstama pridjeljuju položaj duž glavnih okolišnih gradijenata. Koriste se za indirektnu bioindikaciju stanišnih uvjeta putem sastava vegetacije računanjem srednje vrijednosti svih vrsta prisutnih na nekoj plohi za svaki pojedini ekološki gradijent. Neponderirane srednje vrijednosti svih indikatora izračunate su pomoću programa JUICE [181]. Geografski centroid svih snimki određen je u QGIS okruženju (algoritam „Mean

coordinate(s)“), dok su udaljenosti pojedinih kvadranta od središta izračunate funkcijom „Distance matrix“ [182].



Slika 19. Prikaz regija za usporedbu ekoloških obrazaca promatrane vrste *Aristolochia clematitis* [68]

3.2.2. Određivanje prisutnost biljke *Aristolochia clematitis* na poljoprivrednim površinama u Hrvatskoj



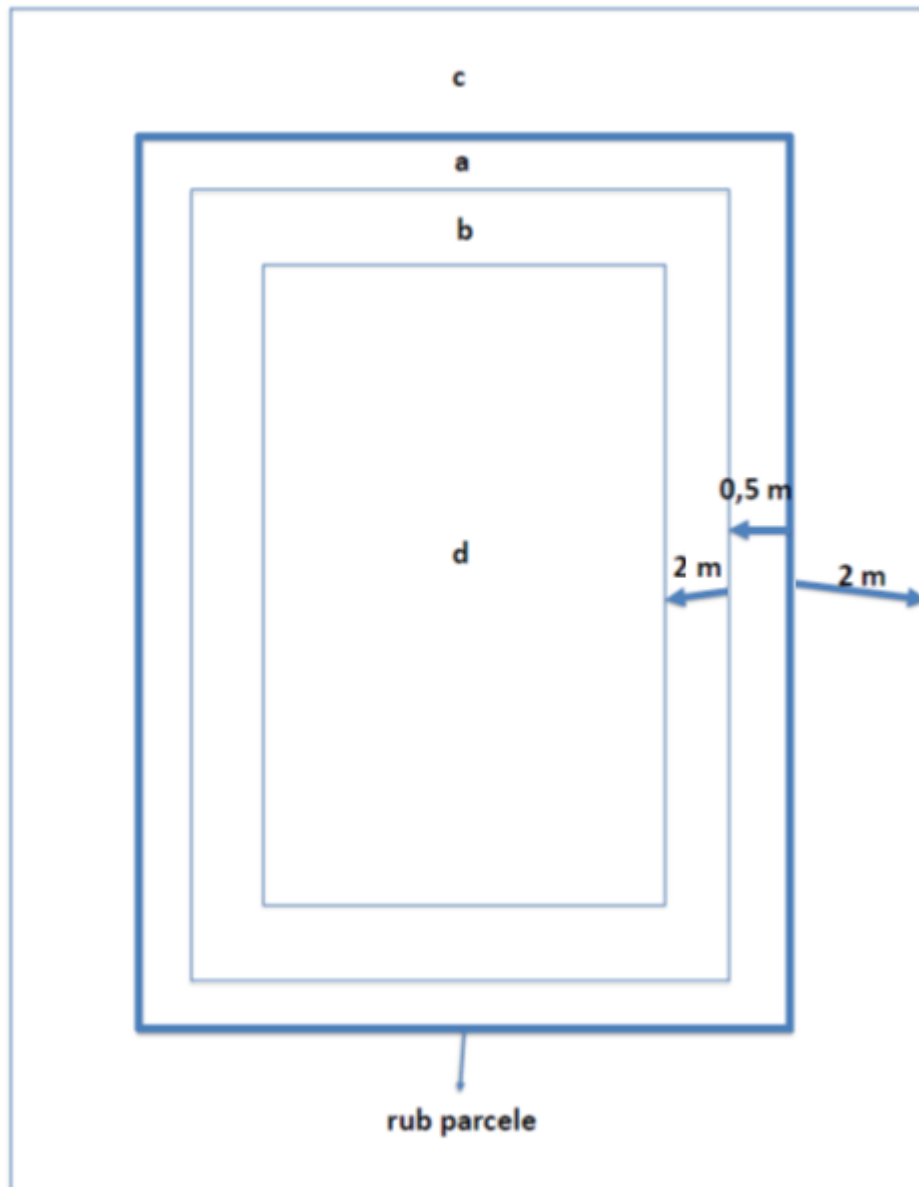
Slika 20. Područja na kojima je određivana prisutnost biljke vučja stopa (*Aristolochia clematitis*) na poljoprivrednim površinama na kojima se uzgajaju žitarice u endemskim i neendemskim područjima

Planom uzorkovanja za utvrđivanje prisutnosti biljke *Aristolochia clematitis* na poljoprivrednim površinama određeno je ukupno pet područja u Republici Hrvatskoj od kojih je jedno endemsko i četiri neendemska: 1. Endemsko područje; 2. Lonjsko polje; 3. Područje istočno od Slavenskoga Broda – općina Klakar; 4. Međimurje; 5. Podnožje Dilja – općina Podcrkavlje (slika 20). Na svakom od izabranih područja je u slijedećim fazama istraživanja od 2021. do 2023. godine obavljeno terensko prebrojavanje jedinki vučje stope koje rastu na pojedinačno uzorkovanim poljoprivrednim površinama. Poljoprivredne površine za uzorkovanje određene su slučajnim odabirom brojeva poljoprivrednih katastarskih čestica za pojedine katastarske općine u programskom paketu Microsoft Excel. Na endemskom području izabrana je 21 čestica (poljoprivredna površina), u Lonjskom polju 24, istočno od Slavenskoga Broda – općina Klakar 18, u Međimurju 24 i u

podnožju Dilja – općina Podcrkavlje 25 čestica. Za određivanje prisutnosti i kartiranje vegetacije postoji veliki broj metoda, a izbor prikladne metode ovisi o postavljenim ciljevima [183]. S obzirom na to da smo preliminarno utvrdili najčešći način rasta i rasprostranjenosti biljaka vrste *Aristolochia clematitis* na istraživanom području sami smo konstruirali najprikladniju metodu za određivanje njene brojnosti na uzorkovanim poljoprivrednim površinama kako bi što jednostavnije i preciznije mogli uspoređivati uzorkovana područja (slika 20 i slika 21).



Slika 21. Biljka *Aristolochia clematitis* u polju pšenice na endemskom području u katastarskoj općini Kaniža (fotografija Ivan Brzić, ljeto 2022.)



Slika 22. Prikaz poljoprivredne površine razdijeljene u četiri kategorije za određivanje broja vuče stope u jedinici mjerenja

a. međa (0,5 m od ruba parcele prema unutrašnjem dijelu parcele); b. unutar 2 m (2 m od mjesta gdje završava unutarnji dio međe, prema unutrašnjem dijelu parcele); c. van 2 m (2 m od ruba parcele prema van kada je u pitanju put, šuma, kanal itd., a ne poljoprivredna čestica); d. centralni dio (sve unutar katastarske čestice što nije obuhvaćeno kategorijama međa i unutar 2 m).

Na svakoj izabranoj poljoprivrednoj površini (parceli) brojno stanje biljaka vrste *Aristolochia clematitis* odredili smo u četiri kategorije: a. međa (0,5 m od ruba parcele

prema unutrašnjem dijelu parcele); b. unutar 2 m (2 m od mjesta gdje završava unutarnji dio međe, prema unutrašnjem dijelu parcele); c. van 2 m (2 m od ruba parcele prema van kada je u pitanju put, šuma, kanal itd., a ne poljoprivredna čestica); d. centralni dio (sve unutar katastarske čestice što nije obuhvaćeno kategorijama međa i unutar 2 m). Do svake katastarske čestice (mjesta uzorkovanja) fizički se pristupilo na terenu. Poljoprivredna površina odnosno katastarska čestica se obišla po opsegu, dijagonalama, paralelama (max. udaljenosti 20 m), pri čemu je utvrđivano brojno stanje biljaka *Aristolochia clematitis* koje je evidentirano sukladno određenim kategorijama. Za priručni alat korišten je mobilni telefon za pronalazak i geolociranje katastarske čestice odnosno površine za uzorkovanje kao i fotografiranje biljaka, metar drveni/čelični za određivanje kategorije rasta biljki *Aristolochie clematitis*, prijenosno računalo i blok za pisanje. Prilikom obilaska terena i prikupljanja uzoraka (brojnog stanja biljaka) potvrdili smo unaprijed definiranu katastarsku općinu, katastarsku česticu, te smo upisali i ratarsku kulturu koju smo zatekli na polju, kao i neke druge opaske koje bi mogle pomoći u analizi i razumijevanju sadašnje i nekadašnje rasprostranjenosti biljaka *Aristolochia clematitis* i njezinom putu do ulaska u organizam stanovnika endemskih sela. Prisutnost biljke *Aristolochia clematitis* određivala se na svim poljima u mjesecima prije žetve. Za svaki uzorak određen je opseg parcele/katastarske čestice/poljoprivredne površine koja se obrađuje putem online dostupnih programa, zemljišnih knjiga, Geoportala i Arkod preglednika [184, 185, 186]. Prema utvrđenim pojedinačnim površinama za svaku kategoriju uzoraka kao i utvrđenom broju biljaka po pojedinoj kategoriji na polju, dobiveni su podaci o stvarnom broju biljaka po m² u svakoj kategoriji uzorka (međa, unutar 2 m, van 2 m, centralni dio).

3.2.3. Određivanje prisutnosti aristolohične kiseline u tlu i pšenici

Određivanje AA-a u sjemenu pšenice i u poljoprivrednom tlu na hrvatskom endemskom području BEN-a i kontrolnim područjima učinjeno je LC-ESI-MS/MS metodom za kvantifikaciju mikotoksina i drugih sekundarnih metabolita [187].

Uzorkovanje pšenice i tla te analitička obrada uzoraka Poljoprivredna površina s koje su uzimani uzorci najprije je podijeljena na dva dijela: 1. dio polja na kojem su zajedno rasle

pšenica i *Aristolochia clematitis*; 2. dio polja na kojem je rasla čista pšenica, bez primjesa vrste *Aristolochia clematitis*. Za određivanje površine pojedinačnog uzorkovanja izrađen je kvadratni čelični okvir od armaturne žice, površine 1 m². Za svaki pojedinačni uzorak okvir je slobodnim bacanjem postavljen na tlo, čime su slučajnim odabirom određene plohe površine 1 m², najprije u dijelu polja na kojem su zajedno rasle pšenica i *Aristolochia clematitis*, a zatim u dijelu polja na kojem je rasla čista pšenica bez primjesa navedene vrste. S tako određenih ploha uzimani su uzorci pšenice na način da su ručno pobrani svi klasovi sa sjemenom pšenice koji su se nalazili unutar čeličnog okvira, odnosno unutar odabrane plohe površine 1 m². Sjeme je potom ručno odvojeno iz klasova i usitnjeno pomoću mužara. Za svaki pojedinačni uzorak pripremljeno je 100 g materijala za analizu. Uzorci su zasebno pakirani u PVC vrećice, označeni brojevima i pohranjeni na temperaturi od -18 °C do analize. S istih ploha s kojih su uzimani uzorci pšenice prikupljeni su i površinski uzorci tla do dubine od 15 cm. Uzorci tla također su pakirani u PVC vrećice, označeni brojevima i pohranjeni na temperaturi od -18 °C do analize. Analiza uzoraka pšenice i tla provedena je LC-ESI-MS/MS metodom za kvantifikaciju mikotoksina i drugih sekundarnih metabolita [187].

Istraživanje se provodilo kroz dvije godine, i to svaka godina za sebe, stoga su i rezultati prikazani razdvojeno. Prvo preliminarno istraživanje: uzorkovanje pšenice i tla te probno vršenje kombajnom. U prvoj godini istraživanja uzorkovanje sjemena pšenice i tla provedeno je tijekom srpnja 2021. godine na jednoj katastarskoj čestici u katastarskoj općini Slavonski Kobaš, smještenoj u blizini rijeke Save, u predjelu „Mlini koje je pripadala kućanstvu s prisutnom BEN-om. Na predmetnoj je čestici u vegetacijskoj sezoni 2021. godine uzgajana pšenica. Tijekom terenskog obilaska utvrđena je prisutnost više od 500 biljaka *Aristolochia clematitis* koje su rasle zajedno s pšenicom, pretežito uz rubne dijelove parcele. Na biljkama vučje stope ukupno su utvrđena 93 ploda. Za potrebe istraživanja analizirano je 6 uzoraka sjemena pšenice i 6 pripadajućih uzoraka tla. Uzorci 1, 2 i 3 uzeti su s ploha na kojima je zajedno s pšenicom rasla *Aristolochia clematitis* pri čemu je gustoća biljke iznosila 28, 10 i 25 biljaka/m². Uzorci 4, 5 i 6 uzeti su s ploha na kojima *Aristolochia clematitis* nije bila prisutna. Svi uzorci prikupljeni su na aluvijalnom tlu (fluvisol), obranjenom od poplava. Nakon uzimanja uzoraka za utvrđivanje prisutnosti AA-

a u sjemenu pšenice istoga je dana provedeno i probno vršenje pšenice kombajnom (Topliner 4080 Deutz Fahr) na predmetnoj katastarskoj čestici, kako bi se utvrdila prisutnost sjemenki i drugih dijelova biljke *Aristolochia clematitis* među izvršenim sjemenom pšenice. Kombajnom je vršen samo rubni dio parcele na kojem su uz pšenicu bile prisutne biljke vučje stope u fazi plodonošenja. Izvršeno sjeme pšenice s rubnog dijela parcele detaljno je ručno odvajano i vizualno pregledano, pri čemu se utvrđivala prisutnost sjemenki biljke *Aristolochia clematitis* među izvršenim sjemenom pšenice. U okviru ovoga prvoga preliminarnog istraživanja također je mjerena veličina otvora na sitima kombajna te je provedena usporedba sa sitima vršalice koja su se nekada koristila u dvofaznoj vršidbi. U drugom dijelu ovoga dijela istraživanja određene su lokacije prikupljanja uzoraka na području BEN-a i na dva kontrolna područja (istočno od Slavonskog Broda - Klakar u blizini rijeke Save i sjeverno od Slavonskog Broda, najjužniji obronci Dilj gore) (slika 23). Provedbom ovoga istraživanja obuhvaćene su 4 katastarske čestice na kojima raste pšenica, a na dijelu površine u pšenici su prisutne i biljke *Aristolochia clematitis* dvije katastarske čestice smještene su u endemskom području u blizini sela Pričac i Lužani dok su druge dvije smještene u kontrolnim neendemskim područjima. Ukupno je prikupljeno 20 uzoraka pšenice i 20 uzoraka tla i to 12 uzoraka s endemskog područja i 8 uzoraka iz kontrolnih područja (2 uzorka istočno od Slavonskog Broda – Klakar u blizini rijeke Save i 6 uzoraka sjeverno od Slavonskog Broda, najjužniji obronci Dilj gore) (tablica 5).



Slika 23. Područja uzorkovanja za određivanje prisutnosti aristolohične kiseline u zrnu pšenice i tlu

Tablica 5. Prikaz broja biljaka *Aristolochia clematitis* prema uzorcima tla i pšenice

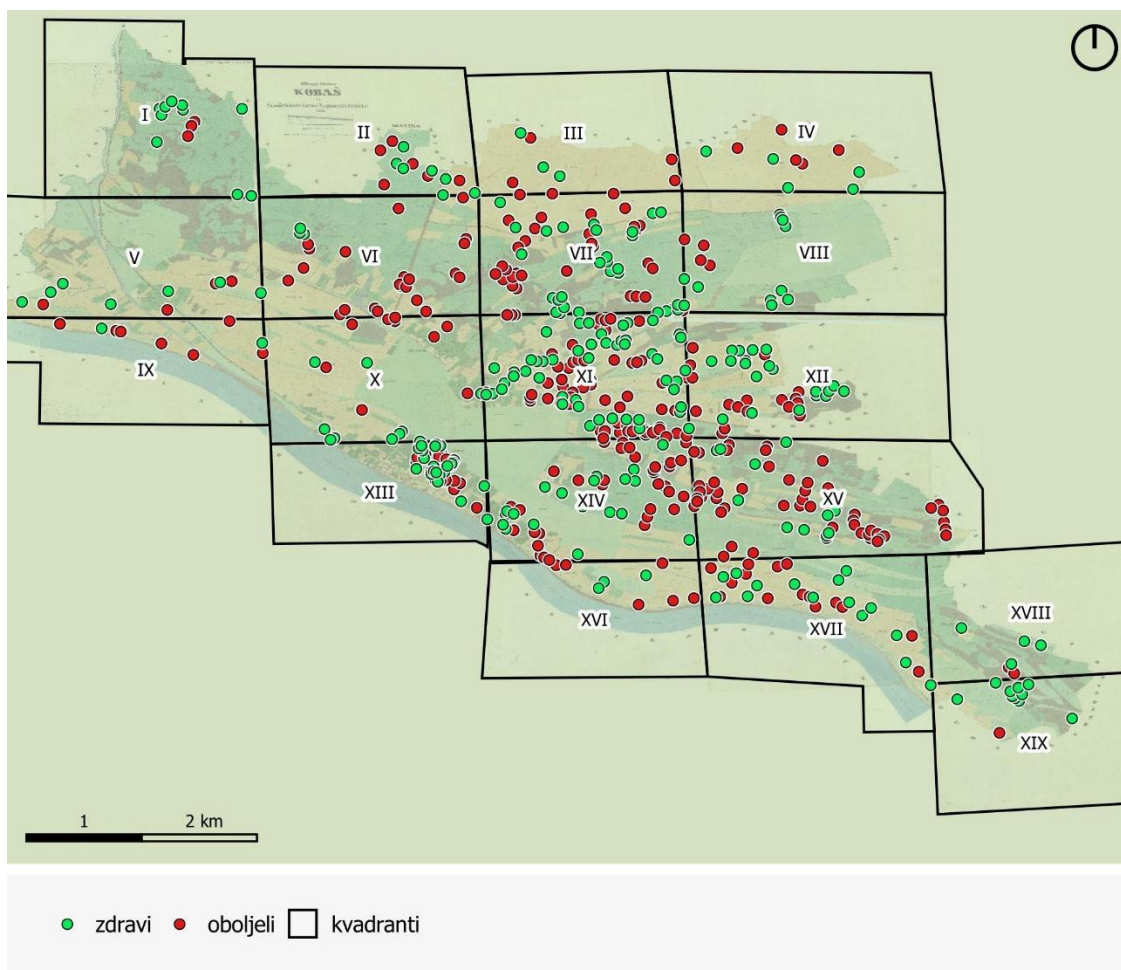
Uzorak	K.O.	Područje	AC/m ²	Vrsta pšenice	Vrsta tla
PŠENICA – TLO UZORAK 1	Lužani	Endemsko	12	Balitus	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 2	Lužani	Endemsko	7	Balitus	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 3	Lužani	Endemsko	0	Balitus	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 4	Lužani	Endemsko	0	Balitus	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 5	Lužani	Endemsko	3	Balitus	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 6	Lužani	Endemsko	0	Balitus	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 7	Klakar	Neendemsko	15	Kraljica	Ritska crnica, djelomicno hidromeliorirana
PŠENICA – TLO UZORAK 8	Klakar	Neendemsko	0	Kraljica	Ritska crnica, djelomicno hidromeliorirana
PŠENICA – TLO UZORAK 9	Pričac	Endemsko	7	Sofru	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 10	Pričac	Endemsko	8	Sofru	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 11	Pričac	Endemsko	8	Sofru	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 12	Pričac	Endemsko	0	Sofru	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 13	Pričac	Endemsko	0	Sofru	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 14	Pričac	Endemsko	0	Sofru	Aluvijalno (fluvisol) obranjeno od poplava
PŠENICA – TLO UZORAK 15	Grabarje	Neendemsko	6	*Tavanuša	Močvarno glejna, djelomicno hidromeliorirana
PŠENICA – TLO UZORAK 16	Grabarje	Neendemsko	10	*Tavanuša	Močvarno glejna, djelomicno hidromeliorirana
PŠENICA – TLO UZORAK 17	Grabarje	Neendemsko	10	*Tavanuša	Močvarno glejna, djelomicno hidromeliorirana
PŠENICA – TLO UZORAK 18	Grabarje	Neendemsko	0	*Tavanuša	Močvarno glejna, djelomicno hidromeliorirana
PŠENICA – TLO UZORAK 19	Grabarje	Neendemsko	0	*Tavanuša	Močvarno glejna, djelomicno hidromeliorirana
PŠENICA – TLO UZORAK 20	Grabarje	Neendemsko	0	*Tavanuša	Močvarno glejna, djelomicno hidromeliorirana

Uzorci pšenice i tla prikupljani su s poljoprivrednih površina koje se nalaze u katastarskim općinama Lužani i Pričac na endemskom području, te Klakar i Grabarje na kontrolnom neendemskom području. Na uzorkovanim katastarskim česticama u 2022. godini uzgajana je pšenica. Cilj je bio istražiti prisutnost AA-a u sjemenu pšenice i u tlu. Na ispitivanim poljoprivrednim površinama utvrđena je prisutnost biljaka *Aristolochia clematitis* koje su rasle zajedno s pšenicom, uglavnom uz rubne dijelove parcela. U istraživanju je ukupno prikupljeno 20 uzoraka sjemena pšenice i 20 uzoraka tla (tablica 5). Uzorci su prikupljani tijekom srpnja 2022. godine na odabranim katastarskim česticama, prema prethodno opisanom postupku uzorkovanja navedenom u dijelu „Uzorkovanje pšenice i tla te analitička obrada uzoraka“.

3.2.4. Utvrđivanje prostornog korištenja zemljišta kod skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi

U okviru istraživanja također smo stavili u odnos dvije skupine slučajnih uzoraka bolesni/sumnjivi i zdravi, i njihove poljoprivredne površine koje su obrađivali u katastarskoj općini Slavonski Kobaš, kako bi utvrdili postoji li veza između pojedine skupine i prostornih podataka koji se odnose na korištenje poljoprivrednog zemljišta u određenim dijelovima navedene katastarske općine. Jedan je uzorak obuhvaćao ukupno 11 bolesnih/sumnjivih koji pripadaju endemskim kućanstvima, a drugi uzorak 11 zdravih koji pripadaju neendemskim kućanstvima, koji su nam predstavljali dvije različite skupine za daljnju obradu i analizu. Do obitelji/kućanstava iz skupine bolesni/sumnjivi došlo se pretražujući (stališe duša od 1858. do 1960. godine potom pretražujući maticu umrlih i razloge smrti od 1949. do 1991. godine [188-193]; Parice matične knjige umrlih rimokatoličke Župe Slavonski Kobaš (1886.-1946.) [194]; Maticu umrlih rimokatoličke Župe Slavonski Kobaš (1949-2019) [195] te je utvrđeno da je osoba u uzorku umrla od bubrežnih bolesti ili s njima povezanom bolesti, te iz arhiva slavonskobrodske bolnice - oboljeli/sumnjivi (bolesnici s operiranim tumorima i dokazanim aduktima i/ili p53 mutacijama, bolesnici s dijagnozom BEN-e postavljenom na temelju kriterija). Do obitelji/kućanstava iz skupine zdravi se došlo pretražujući stališe duša od 1858. do 1960. godine potom pretražujući maticu umrlih i razloge smrti od 1949. do 1991. godine [188-193]. Parice matične knjige

umrlih rimokatoličke Župe Slavonski Kobaš (1886. - 1946.) [193]; Maticu umrlih rimokatoličke Župe Slavonski Kobaš (1949. - 2019.) [194] te je utvrđeno da nitko u porodici (kućanstvu u kojoj su živjeli) nije umro od bubrežnih bolesti niti s njima povezanih bolesti, niti su postojali drugi kriteriji za BEN. Prostorne podatke smo pronašli i preuzeli iz Hrvatskog državnog arhiva u Zagrebu, a odnose se na: 1) Kartu iz 1855. i 1891. godine [195]; 2) Registar posjednika zemljišta iz 1856. godine, upisnik zemljišnih i upisnik kućnih čestica [196]. Kako su nekada karte bile u papirnatom obliku, ručno crtane i nisu u komadu mogle obuhvatiti veliku površinu kao danas digitalne, tako je i karta katastarske općine Slavonski Kobaš iz 1855. i 1891. godine podijeljena na 19 dijelova koji su nam poslužili da upravo prema njima i izradimo sistematizaciju i analizu ispitivanih skupina bolesni/sumnjivi i zdravi (slika 24). Analize smo radili prema već podijeljenoj karti u 19 predjela. Podatke koje smo dobili iz medicinskih baza o bolesnima/sumnjivima s iz sela Slavonski Kobaš uspoređivali smo s podacima iz baza Hrvatskog državnog arhiva (Registar posjednika zemljišta iz 1856. godine, upisnik zemljišnih i upisnik kućnih čestica), Povijesnog arhiva Požeške biskupije (stališe duša od 1858. do 1960. godine), Arhiva rimokatoličke župe u Slavonskom Kobašu (matica umrlih od 1949. do 1991. godine) [188-197] da bi svaku bolesnu/sumnjivu osobu/obitelj iz uzorka povezali s njenim katastarskim česticama koje su posjedovali u vrijeme prije komasacije i prostorno ih smjestili na kartu koju smo preuzeli iz Hrvatskoga državnog arhiva [196]. Također smo pretražujući medicinske baze podataka o bolesnima/sumnjivima iz sela Slavonski Kobaš podatke uspoređivali s podacima iz baza Hrvatskog državnog arhiva (Registar posjednika zemljišta iz 1856. godine, upisnik zemljišnih i upisnik kućnih čestica), Povijesnog arhiva Požeške biskupije (stališe duša od 1858. do 1960. godine), Arhiva rimokatoličke župe u Slavonskom Kobašu (matica umrlih od 1949. do 1991. godine) [188-195] i došli do informacija o osobama/obiteljima iz sela Slavonski Kobaš koji su u isto vrijeme bili zdravi. Svakoj zdravoj osobi/obitelji iz uzorka pridružili smo njene katastarske čestice koje su posjedovali u vrijeme prije komasacije i prostorno ih smjestili na kartu koju smo također preuzeli iz Hrvatskog državnog arhiva.



Slika 24. Karta prostornoga korištenja zemljišta u katastarskoj općini Slavonski Kobaš, 1891. godine [196] s označenim katastarskim česticama uzorkovanih zdravih (zelene točke) ili bolesnih (crvene točke) posjednika.

Za označavanje, obradu i prikaz prostornih podataka na kartama korišten je programski paket Qgis [182]. Trenutno važeći digitalni katastarski plan (DKP) za istraživano područje preuzeli smo od Državne geodetske uprave [198]. Kartu, iz više dijelova, preuzetu od Hrvatskoga državnog arhiva u Zagrebu [196], najprije smo podigli u programski paket Qgis, a zatim ju georeferencirali. Za svaki uzorak iz skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi na karti smo pronašli pripadajuće katastarske čestice koje su koristili. Točkom smo označili na karti (zelenom bojom zdravi, crvenom bojom bolesni) svaku katastarsku

česticu koju su koristile osobe iz obje skupine te smo im pridružili i osnovne atributne podatke potrebne za prostorne analize i prikaze podataka.

3.3. Statistička obrada podataka

Metode korištene za analizu podataka vezanih uz određivanje prevalencije i incidencije, te za usporedbu obilježja stanovnika endemskih i neendemskih sela

Prikupljeni podaci upisani su u tablice oblikovane u programu MS Excel (Microsoft Office LTSC Professional Plus 2021, Microsoft Corporation, SAD) i statistički obrađeni u programu IBM SPSS Statistics 28.0.0.0. (IBM Corporation, Armonk, NY, USA. Normalnost distribucije podataka testirala se Kolmogorov–Smirnovljev testom. Rezultati su prikazani mjerama centralne tendencije; aritmetička sredina, standardna devijacija, medijan i interkvartilni raspon (IQR) za normalno raspodijeljene varijable i kao broj (%) za kategorijske varijable. Normalno raspodijeljene varijable uspoređene su Studentovim t-testom i t-testom za uparene uzorke, a za varijable čija raspodjela odstupa od normalne korišten je Mann-Whitneyjev U-test. Za usporedbu tri ili više nezavisnih skupina podataka s ordinalnom ili intervalnom skalom primijenio se neparametrijski statistički Kruskal-Wallis test. Grafički prikaz (Box and whisker plot) korišten je za prikaz distribucije numeričkih podataka odnosno vizualizaciju raspona podataka, njihove disperzije, srednje vrijednosti i potencijalnih ekstremnih vrijednosti (engl. *outliera*). *Post hoc* analiza provedena je Bonferroni testom, a rezultati *post hoc* testova su grafički prikazani. Korelacije između analiziranih parametara određene su Pearson-ovim testom (za varijable s normalnom distribucijom) i Spearmann-ovom skalom (za varijable s ne-normalnom distribucijom).

Za sve navedene testove vrijednost $p < 0,05$ smatrala se statistički značajnim rezultatom.

Statističke analize korištene kod određivanja niša i analize razlika u broju biljaka *Aristolochia clematitis* između endemskog i neendemskih područja

Statističke analize razlika između središnjih i rubnih regija provedene su korištenjem Mann-Whitney U testa za ESI, broj EUNIS staništa i broj vegetacijskih razreda ($p < 0,01$). Za procjenu razlika u EIV vrijednostima, indikatorima poremećaja te u broju biljaka *Aristolochia clematitis* na parcelama na endemskom i neendemskim područjima korišten je Kruskal-Wallis H test uz višestruke usporedbe srednjih rangova ($p < 0,05$). Korelacije

između ESI vrijednosti i udaljenosti od geografskog središta izračunate su Pearsonovim r koeficijentom ($p < 0,001$), dok su Spearmanove korelacije korištene za povezivanje širine niše i okolišnih varijabli ($p < 0,01$). Širina niše definirana je kao kvartilni raspon vrijednosti svake varijable po kvadrantu.

Model predikcije praktičnog iščezavanja Balkanske nefropatije

Budući da su u istraživanju opaženi jasni vremenski trendovi pada prevalencije BEN-a i terminalnih ishoda bolesti, dodatno je izrađen model predikcije praktičnog iščezavanja bolesti u hrvatskom endemskom žarištu. Uz navedene postupke, za potrebe ovoga istraživanja izrađen je i model vremenskoga trenda bolesti s ciljem procjene vremena praktičnog iščezavanja BEN-a u hrvatskom endemskom žarištu. Za model prevalencije korišteni su podaci iz perlustracija provedenih u hrvatskom endemskom području od 1958. do 1990. godine te podaci dobiveni u našim istraživanjima od 2003. do 2022. godine. Za model terminalnih ishoda korišteni su podaci iz bolesničkih arhiva Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskom Brodu o godišnjem broju novih bolesnika s BEN-om koji započinju liječenje kroničnom hemodijalizom u razdoblju od 1992. do 2025. godine te o godišnjem broju bolesnika operiranih zbog karcinoma gornjega dijela mokraćnog sustava u razdoblju od 1995. do 2025. godine. Za procjenu vremena praktičnog iščezavanja BEN-a korišten je eksponencijalni model pada u vremenu [199, 200]:

$$Y_t = Y_0 \cdot e^{-kt}$$

gdje je Y_t promatrana vrijednost u godini t (prevalencija BEN-a ili godišnji broj terminalnih BEN ishoda), Y_0 početna vrijednost, a k konstanta pada. Parametri modela procijenjeni su na temelju vremenskoga trenda opaženih vrijednosti. Radi jednostavnije procjene i prikaza parametara model je prikazan i u log-linearnom obliku:

$$\ln(Y_t) = a + b \cdot t$$

pri čemu negativna vrijednost koeficijenta b označuje silazni trend promatranog ishoda kroz vrijeme. Posebno su analizirani: 1. pad prevalencije BEN-a u populaciji; 2. pad terminalnih ishoda bolesti, definiranih kao godišnji broj novih bolesnika s BEN-om koji započinju liječenje kroničnom hemodijalizom i/ili godišnji broj bolesnika operiranih zbog UUC-a koji su živjeli u endemskom području dulje od 15 godina. Za prikaz terminalnih ishoda korišten je i trogodišnji pomični prosjek radi smanjenja utjecaja godišnjih oscilacija

i boljega prikaza osnovnog silaznog trenda [201]. Model terminalnih ishoda izrađen je na temelju zbroja godišnjeg broja novih BEN bolesnika liječenih kroničnom hemodijalizom i godišnjeg broja bolesnika operiranih zbog UCC-a u razdobljima za koja su podaci bili dostupni. Kao prag praktičnog iščezavanja BEN-a u populaciji definirana je prevalencija manja od 0,1 %, dok je za praktično iščezavanje terminalnih ishoda kao prag uzeta vrijednost manja od 0,5 slučajeva godišnje. Na temelju dobivenih projekcijskih krivulja procijenjeno je vrijeme u kojem BEN više ne bi imala obilježja aktivne endemske bolesti u hrvatskom endemskom žarištu. Rezultati modela prikazani su uz odgovarajuće grafičke prikaze vremenskih trendova prevalencije bolesti i terminalnih ishoda. Dobiveni model omogućio je usporedbu vremenskog trenda prevalencije bolesti u populaciji i trenda terminalnih BEN ishoda.

3.4. Etički aspekti istraživanja

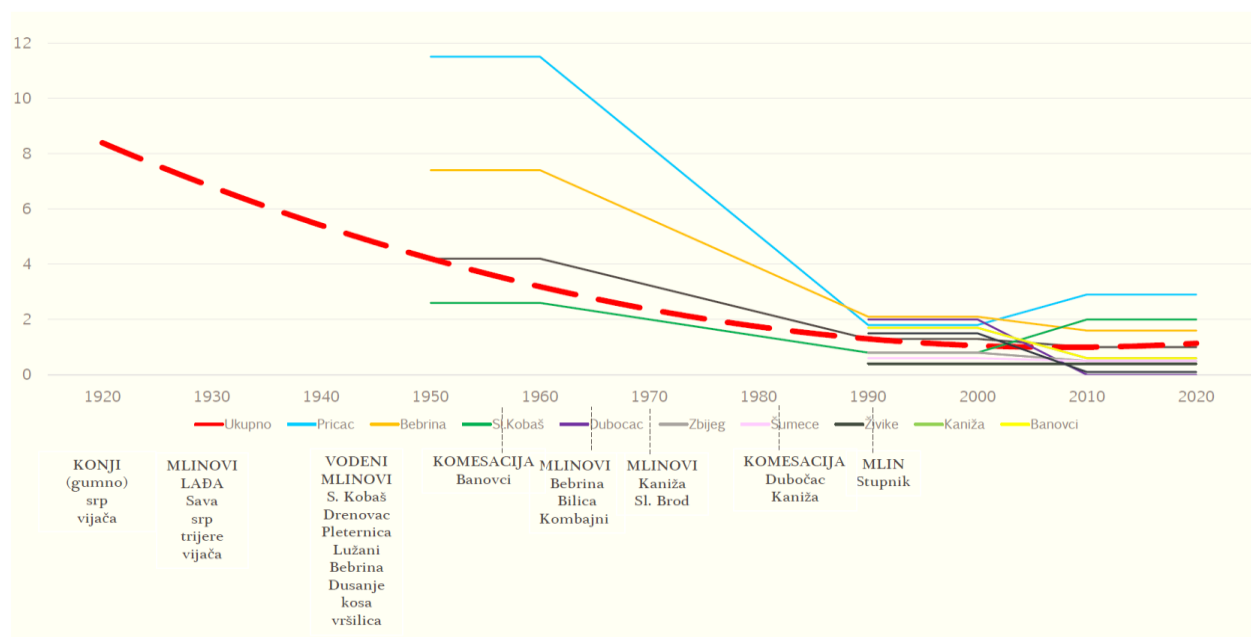
U skladu s Etičkim kodeksom ovo istraživanje uključivalo je prikupljanje podataka i bioloških uzoraka ispitanika. U istraživanje epidemiologije AH-a u Hrvatskoj uključeni su suglasni odrasli zdravstveni osiguranici liječnika obiteljske medicine diljem Republike Hrvatske kojima su se iz uzoraka krvi i urina određivali osnovni laboratorijski pokazatelji prema ciljevima istraživanja a u svrhu detekcije čimbenika rizika za razvoj AH-a i KBB-a. Istraživanjem je osigurano poštivanje temeljnih etičkih i bioetičkih principa – osobni integritet (autonomnost), pravednost, dobročinstvo i neškodljivost u skladu s Nürnberškim kodeksom i najnovijom revizijom Helsinške deklaracije [202 - 204] Zakonom o pravima pacijenata Republike Hrvatske (NN 169/04, 37/08), Zakonom o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN 158/08, 71/10, 139/10, 22/11, 84/11, 12/12, 35/12, 70/12, 82/13, 100/18, 125/19, 147/20, 119/22, 156/22 i 33/23) te Uredbom (EU) 2016/679 Europskog parlamenta i Vijeća od 27. travnja 2016. godine o zaštiti pojedinaca u vezi s obradom osobnih podataka i o slobodnom kretanju takvih podataka [205]. Svi uzorci ispitanika su šifrirani, te se time zaštitila privatnost ispitanika, a rezultati istraživanja su se zbirno obrađivali i nisu se prikazivali individualni podatci. U skladu s postulatima translacijske medicine, ispitanici su preko odabranih liječnika obiteljske medicine imali uvid u vlastite rezultate. Istraživanje je provedeno u skladu s Helsinškom deklaracijom. Etičko odobrenje

za istraživanje „Endemska nefropatija u Hrvatskoj, epidemiologija, dijagnostika i etiopatogeneza (ENAH)“ dobiveno je od Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu dana 17.02.2006., te za istraživanje „Epidemiologija hipertenzije i unos kuhinjske soli u Hrvatskoj (EH-UH 2)“ (KLASA: 641-01/17-02/1, URBROJ: 380-59-10106-17-3931 od 12.06.2017.), te Etičkog povjerenstva za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta u Rijeci (KLASA: 003-0812t-0 I/08, URBROJ : 2I7O-24-09-8-21-2, datum odobrenja 26. siječnja 2021.). Ispitanici su na samom početku istraživanja potpisali suglasnost za sudjelovanje u istraživanju.

4. REZULTATI

4.1. Trendovi prevalencije Balkanske nefropatije u Hrvatskoj

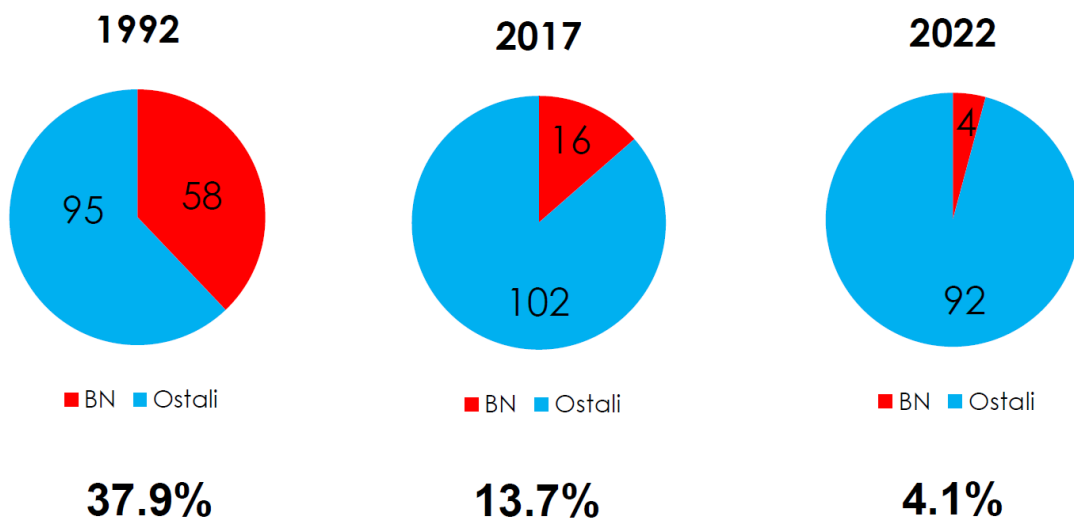
Analizom podataka dobivenih u perlustracijama koje su se u Hrvatskoj provodile od 1958. godine do 1990. godine i podataka dobivenih u našim istraživanjima od 2003. do 2022. godine jasno se uočava značajan pad prevalencije BEN-a u svim endemskim selima hrvatskoga endemskog žarišta uz napomenu da je selo Dubočac prvo selo bez registrirane oboljele osobe (slika 25). Do značajnog pada prevalencije dolazi u prosjeku dvadeset do trideset godina nakon učinjenih melioracijskih radova, komasacije, uvođenja kombajna, te modernih mlinova. Dobivene krivulje jasno ukazuju na trend potpunog nestanka bolesti što će biti još detaljnije prikazano kasnije u rezultatima.



Slika 25. Poljoprivredna tehnološka unaprjeđenja i pad prevalencije Balkanske nefropatije u hrvatskom endemskom žarištu

4.1.1. Trendovi incidencije novih bolesnika s Balkanskom nefropatijom koji počinju liječenje hemodijalizom u lokalnoj bolnici u Slavonskom Brodu

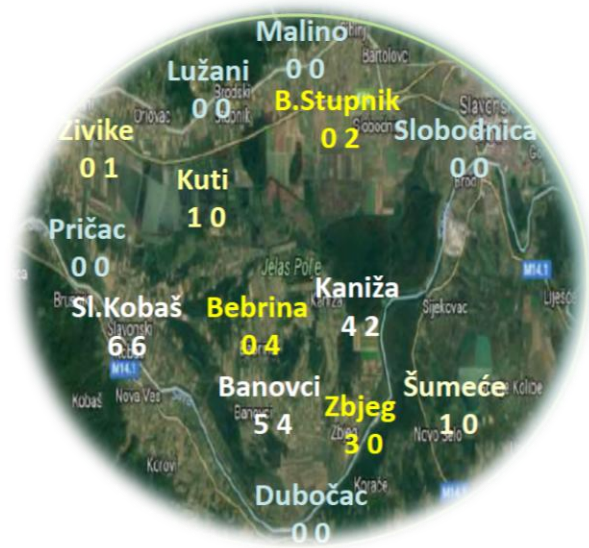
Na temelju podataka dobivenih iz arhive Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskome Brodu uočava se jasan trend smanjivanja broja novih bolesnika koji počinju s liječenjem kroničnom hemodijalizom (slika 26). Od svih bolesnika liječenih kroničnom hemodijalizom 1992. godine bilo je 37,9 % bolesnika s BEN-om, 2017. godine 13,7 %, a 2022. godine 4,1 %. Osim pada broja, bolesnici s BEN-om koji počinju liječenje zadnjih godina značajno su stariji što također ukazuje kako u hrvatskim endemskim selima više nema novo oboljelih. Na slici 26 (A) prikazan je isječak *Google* geografske karte gdje se vidi koliko je bolesnika iz pojedinoga endemskog sela počelo liječenje kroničnom hemodijalizom od 2005. do 2022. godine. Razabire se kako iz sela koja su smještena rubno uz endemsko žarište više nema novih bolesnika koji počinju liječenje hemodijalizom. Kao što je zamijećen pad broja novih bolesnika koji počinju s liječenjem hemodijalizom tako je zamijećen i pad broja bolesnika iz hrvatskoga endemskog žarišta koji su zbog UUC-a operirani u brodskoj bolnici. Na slici 26 (B) prikazan je broj bolesnika iz pojedinoga endemskog sela. Kao što je bio slučaj s novim bolesnicima koji su započeli liječenje kroničnom hemodijalizom tako i u periodu od 2005. do 2022. godine nije bilo niti jednog operiranog bolesnika zbog UUC-a karakterističnog za BEN iz sela smještenih uz rub endemskoga žarišta. Na slici 26 zbirno su prikazani bolesnici koji su u periodu od 2005. do 2022. godine počeli s liječenjem kroničnom hemodijalizom ili su operirani zbog UUC-a te se jasno vidi da u rubnim selima Slobodnica, Malino, Lužani, Pričac i Dubočac nema niti jednog takvog bolesnika. Po jedan bolesnik iz Šumeća i Stupničkih Kuta (Kuti) počeo je liječenje kroničnom hemodijalizom. Na slici 28 zbirno su prikazani trendovi novih bolesnika koji su počeli s liječenjem kroničnom hemodijalizom ili su operirani zbog UUC-a. Ovdje se razabire da do pada broja tih bolesnika dolazi trideset do četrdeset godina nakon tehnoloških promjena, tj. petnaestak godina nakon opaženog pada prevalencije BEN-a što odgovara prosječnom vremenu progresije KBB-a do terminalnog stadija, te vremena potrebnog za nastanak UUC-a.



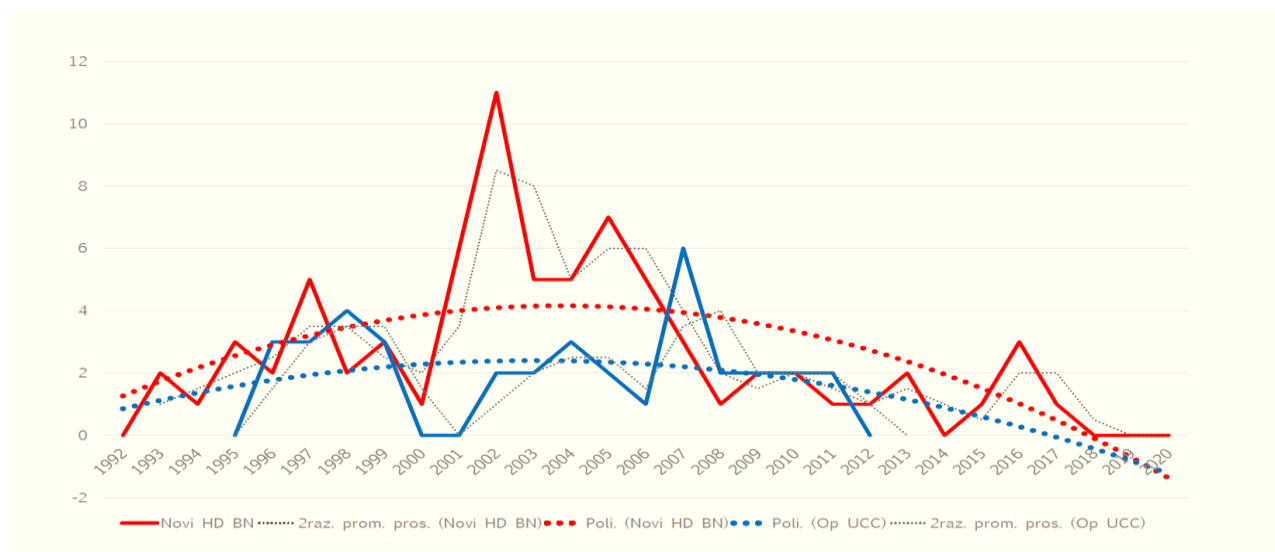
Slika 26. Udio bolesnika s Balkanskom nefropatijom liječenih kroničnom hemodijalizom u Slavonskome Brodu kroz period praćenja od trideset godina



Slika 27. Bolesnici s Balkanskom nefropatijom koji su počeli s liječenjem kroničnom hemodijalizom (A) i koji su operirani zbog karcinoma prijelaznoga epitela gornjeg dijela mokraćnog sustava (UUC) (B) u Slavonskome Brodu kroz period od 2005. do 2022. godine razvrstani prema selima



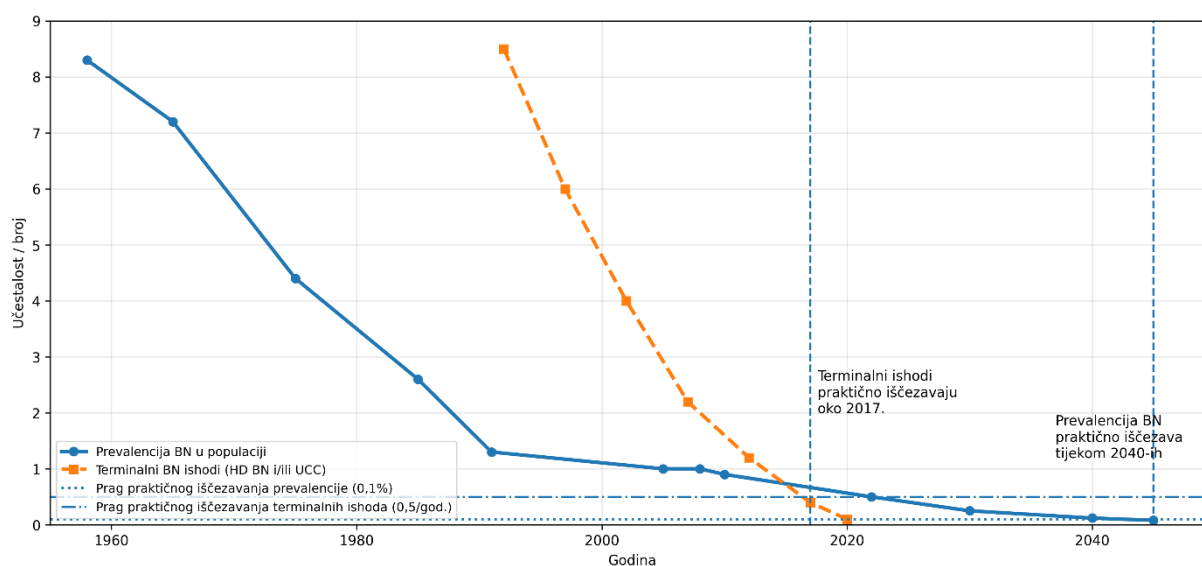
Slika 28. Zbirni prikaz bolesnika s Balkanskom nefropatijom koji su počeli s liječenjem kroničnom hemodijalizom (prva znamenka) i koji su operirani zbog karcinoma gornjeg dijela mokraćnog sustava (druga znamenka) u Slavonskome Brodu kroz period od 2005. do 2022. godine razvrstani prema selima



Slika 29. Incidencije novih bolesnika na kroničnoj hemodijalizi (crveno) i broj operiranih bolesnika zbog karcinoma gornjeg dijela mokraćnog sustava (plavo) (UUC) u Slavonskome Brodu kroz period praćenja od trideset godina

4.1.2. Model praktičnog iščezavanja Balkanske nefropatije u hrvatskom endemskom žarištu na temelju prevalencije bolesti i terminalnih ishoda

Na temelju vremenskog trenda prevalencije BEN-a u endemskim selima te godišnjeg broja novih bolesnika s BEN-om koji započinju liječenje kroničnom hemodijalizom i bolesnika operiranih zbog UUC-a izrađen je model praktičnog iščezavanja bolesti (slika 30). Model terminalnih ishoda, temeljen na godišnjem zbroju novih hemodijaliziranih BEN bolesnika i operiranih UCC bolesnika, potvrđuje da su novi terminalni oblici BEN-a postali praktično iznimno rijetki već oko 2017. godine. Nasuprot tomu, model prevalencije bolesti u populaciji pokazuje sporiji silazni trend i upućuje da bi se praktično iščezavanje BEN-a u hrvatskom endemskom žarištu moglo očekivati tijekom 2040-ih godina. Ovakav vremenski slijed u skladu je s dugim prirodnim tijekom bolesti i zaostajanjem ranije nastalih slučajeva u prevalenciji.



Slika 30. Model praktičnog iščezavanja Balkanske nefropatije u hrvatskom endemskom žarištu

4.1.3. Faktori rizika za kroničnu bubrežnu bolest i karakteristike seoskog stanovništva

U tablici 6 prikazana su obilježja stanovnika endemskoga i neendemskoga područja. Razabire se da je, očekivano, učestalost pozitivne obiteljske anamneze za BEN značajno veća u endemskom području ($p < 0,001$). Nema razlika u stupnju obrazovanja, a u neendemskom području je više stanovnika u najvećoj kategoriji mjesečnih primanja ($p < 0,001$). U endemskim selima više je pušača, a u neendemskom području bivših pušača ($p = 0,013$). Sistolički AT je niži u endemskom području, a nema razlika u vrijednostima dijastoličkoga AT-a. Nema razlika u ITM kategorijama, ali u endemskome području manje su vrijednosti opsega struka. Vrijednosti glukoze su niže u endemskom području, a nema razlika u vrijednostima lipida ($p > 0,05$). Najzanimljiviji i vjerojatno najvažniji podatak je taj da nema razlika u eGFR-u, dok su vrijednosti ACR-a i posebno važno vrijednosti alfa1CR-a, ranog biljega oštećenja tubula i jednog od dijagnostičkih kriterija za BEN, više u stanovnika neendemskih sela ($p < 0,001$). Vrijednosti ePWV su niže u stanovnika endemskog kraja što je dijelom u skladu s nešto mlađom dobi i nižim sistoličkim AT, ali je i u skladu s već poznatom činjenicom da je krutost arterija manaj u BEN-u nego u drugim KBB-ima. Nema razlika u prevalenciji AH-a, pretilosti, dislipidemiji u KBB-u, dok je prevalencija šećerne bolesti i visceralne pretilosti veća u neendemskom području

Tablica 6. Demografske, epidemiološke, kliničke i laboratorijske karakteristike stanovnika endemskih i neendemskih sela

Varijabla	Endemsko područje	Ne-endemsko područje	P
N	1135	365	
Muškarci (%)	438 (38,6)	142 (38,9)	0,956
Dob (godine), c (IQR)	49,0 (37,0–64,0)	53,0 (40,0–68,0)	<0,001
Život u selu (godine), c (IQR)	40 (21–54)	43,5 (23–58)	0,67
Obrazovanje (%)	1 2 3 4 3,6 59,0 32,2 4,5	1 2 3 4 4,2 57,7 31,9 6,9	0,59
Mjesečna primanja (EUR/godina)			0,003
0–500	60 (10,0)	38 (13,1)	
501–1500	43 (7,2)	29 (10,0)	
1501–3000	226 (37,7)	124 (42,8)	
3001–5000	156 (26,0)	61 (21,0)	
5001–10000	99 (16,5)	25 (8,6)	
>10000	15 (2,5)	13 (4,5)	
Pušenje (sadašnji i bivši vs. nikada) (%)	560 (39,7)	131 (35,6)	0,170
Sistolički AT (mmHg), c (IQR)	133,0 (120,0–150,0)	140,0 (124,0–160,0)	<0,001
Dijastolički AT (mmHg), c (IQR)	81,0 (74,5–90,0)	81,0 (75,0–91,5)	0,423
Glukoza (mmol/l), c (IQR)	5,2 (4,8–5,7)	5,3 (4,88–5,90)	0,003
Kolesterol (mmol/l), c (IQR)	5,6 (4,8–6,4)	5,6 (4,9–6,3)	0,958
Kolesterol >5 mmol/l (%)	785 (68,0)	252 (67,6)	0,918
LDL kolesterol (mmol/l), c (IQR)	3,4 (2,7–4,1)	3,3 (2,70–3,95)	0,334
HDL kolesterol (mmol/l), c (IQR)	1,5 (1,29–1,78)	1,54 (1,29–1,82)	0,184
Trigliceridi (mmol/l), c (IQR)	1,27 (0,92–1,84)	1,31 (0,93–1,85)	0,373
ITM (kg/m ²), c (IQR)	26,95 (23,67–30,67)	27,64 (24,22–31,25)	0,033
ITM kategorije N (%)			0,192
<25 kg/m ²	677 (39,3)	168 (35,8)	
25–30 kg/m ²	583 (33,8)	156 (33,3)	
>30 kg/m ²	464 (26,9)	145 (30,9)	
Opseg struka (cm), c (IQR)	94,0 (84,0–102,0)	97,0 (88,0–108,0)	<0,001
Dnevni unos kuhinjske soli (g/dan), c (IQR)	9,9 (8,3–11,6)	10,46 (8,72–12,57)	<0,001
Dnevni unos kalija (g/dan), c (IQR)	1,5 (1,2–1,8)	1,68 (1,34–2,12)	<0,001
Omjer Na/K, c (IQR)	4,33 (3,65–5,02)	4,17 (3,52–5,02)	0,107
ePWV (m/s), c (IQR)	8,7 (7,0–11,2)	9,9 (7,8–12,2)	<0,001
eGFR (ml/min/1,73 m ²), c (IQR)	86,86 (74,58–99,66)	85,62 (75,07–97,29)	0,207
ACR (mg/g), c (IQR)	4,99 (3,42–8,52)	5,72 (3,89–11,34)	<0,001
Alfa1CR (mg/g), c (IQR)	4,93 (3,44–7,76)	6,64 (4,39–10,90)	<0,001
Arterijska hipertenzija N (%)	937 (54,4)	273 (58,2)	0,151
Kronična bubrežna bolest N (%)	162 (9,40)	32 (6,80)	0,099
Šećerna bolest N (%)	210 (12,2)	75 (16,0)	0,036
Kolesterol >5 mmol/l N (%)	785 (68,0)	252 (67,6)	0,918
LDL kolesterol >3,0 mmol/l N (%)	718 (62,2)	226 (60,6)	0,616
Visceralna pretilost N (%)	544 (47,3)	205 (57,3)	0,001
Prehranjenost i pretilost N (%)	1047 (60,1)	301 (64,2)	0,173

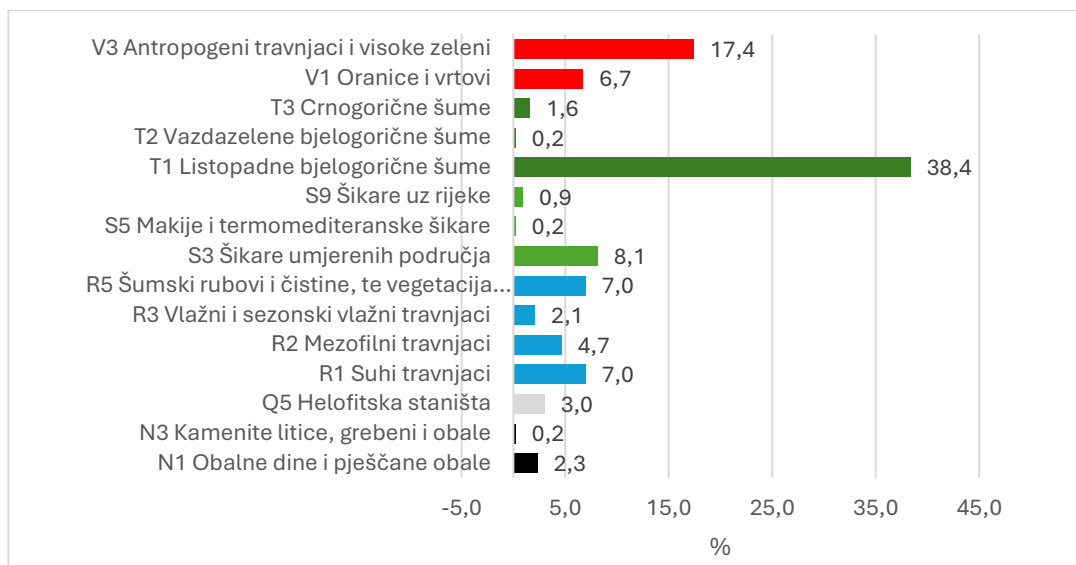
AT = arterijski tlak, ITM = indeks tjelesne mase; ePWV = procijenjena brzina pulsno vala, eGFR= procijenjena glomerularna filtracija; ACR= omjer albumin-kreatinin u urinu; alfa1CR = omjer alfa1 mikroglobulin-kreatinin u urinu

4.2. Rezultati o ekologiji vrste *Aristolochia clematitis*, širina ekološke niše i njezina diferencijacija na cijelom području rasprostranjenosti vrste, dobiveni korištenjem Indeksa ekološke specijalizacije (ESI) vrste

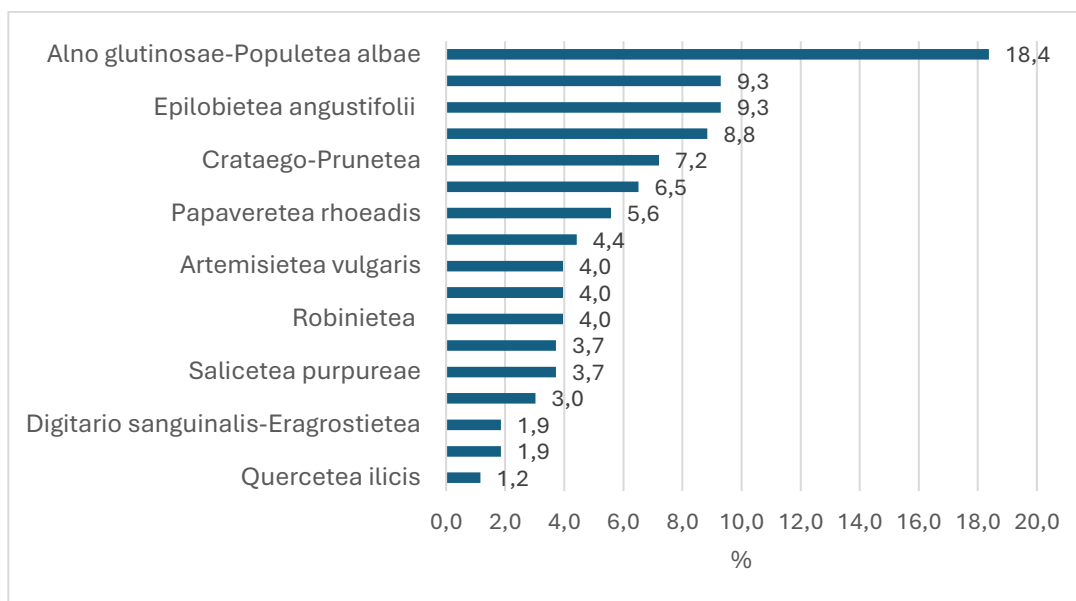
4.2.1. Obilježja ekološke niše vrste *Aristolochia clematitis*

Vrsta *Aristolochia clematitis* pokazuje široku ekološku amplitudu i unutar svoga areala prisutna je u različitim klimatskim uvjetima, pri čemu se srednji godišnji raspon temperature zraka kreće od 0,8 do 18,1 °C, a godišnje količine oborina od 276 do 2234 kg m⁻² (prilog 6, tablica 13S). Vrsta preferira umjereno topla staništa te se javlja u različitim razinama vlažnosti tla i dostupnosti hranjivih tvari (prilog 6, slika 12S). Širinu njene ekološke niše dodatno potvrđuje raznolikost staništa. Vučja stopa je prisutna u 53 EUNIS (*European Nature Information System*) tipa staništa (razina 3) te 26 različitih vegetacijskih razreda. Najčešće se pojavljuje u ritskim šumama te na njihovim rubovima i čistinama, dok se učestalo nalazi i u biljnim zajednicama s dominantno zeljastim vrstama na antropogeno formiranim staništima. Iako se češće povezuje s vlažnim i močvarnim staništima, njezina prisutnost je potvrđena i na suhim travnjacima, uključujući polusuhe i suhe tipove (slika 31). Na slici 31 A prikazan je postotni udio pojedinih stanišnih tipova (EUNIS razina 2) na kojima je zabilježena vrsta *Aristolochia clematitis* dok je na slici 31 B prikazan postotni udio vegetacijskih razreda u kojima je zabilježena ova vrsta. Ukupno promatrano, slika pokazuje da vrsta zauzima ekološku nišu obilježenu umjereno toplim, relativno svijetlim i pretežno bazama bogatijim staništima, uz nešto širu toleranciju prema vlazi i hranjivosti tla.

A



B



Slika 31. Udio pojedinih stanišnih tipova i vegetacijskih razreda na kojima dolazi vrsta *Aristolochia clematitis* u cjelokupnom skupu podataka (851 vegetacijska snimka)

Slika 31 prikazuje udio pojedinih EUNIS stanišnih tipova i vegetacijskih razreda na kojima se pojavljuje vrsta *Aristolochia clematitis* u cjelokupnom skupu od 851 vegetacijske snimke. Raspored pokazuje da se *Aristolochia clematitis* pojavljuje u širokom rasponu vegetacijskih uvjeta, ali s najvećom zastupljenošću u šumskim, rubnim i sekundarnim staništima.

4.2.2. Diferencijacija ekološke niše

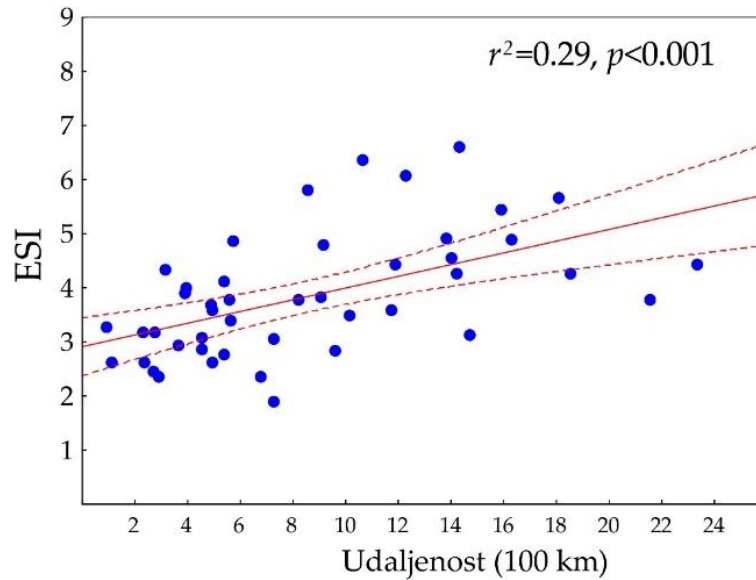
Vrijednosti ESI (indeksa ekološke specijalizacije) značajno variraju među analiziranim kvadrantima, u rasponu od 1,88 do 6,59. Promatrajući cijelo područje rasprostranjenosti vrste, obrazac varijabilnosti ESI-a pokazuje heterogenost, ali i značajnu pozitivnu povezanost između vrijednosti ESI i udaljenosti pojedinog kvadranta od geografskog središta areala (slika 32). Drugim riječima, u rubnim dijelovima areala *Aristolochia clematitis* se ponaša kao ekološki specijalist, tj. dolazi na manjem broju sličnijih staništa, dok u središnjim dijelovima pokazuje obilježja generalista, tj. dolazi na većem broju raznolikijih staništa (slika 33). Kvadranti s višim ESI vrijednostima karakterizira niži ekološki optimum za svjetlo i reakciju tla. Također, viši ESI je povezan s nižom učestalošću poremećaja i manjim stupnjem poremećaja tla, što dodatno ukazuje na specijalizaciju vrste u ekološki stabilnijim uvjetima (slike 34 i 35). U tim kvadrantima vrsta se češće pojavljuje u šumskim staništima, dok je njena prisutnost na antropogenim staništima rjeđa (tablica 6, slike 34 i 35). ESI je značajno koreliran sa širinom gradijenata za vlagu i sve analizirane indikatore poremećaja, što potvrđuje da je viša specijalizacija povezana sa sužavanjem niše za vlagu i nižom tolerancijom na antropogene utjecaje (tablica 7). Bioklimatske varijable u diferencijaciji ekološke niše tablično su prikazane u prilogu 6, tablica 12S.

Tablica 7. Spearman-ove korelacije [206] između ESI i medijana, te ESI i kvartilnog raspona za varijable koje opisuju ekološku nišu vrste *Aristolochia clematitis*

Varijable	Spearman R između	
	ESI i medijana	ESI i kvartilnog raspona
EIV Svjetlo	-0.35	-
EIV Vлага	-	-0.48
EIV Reakcija tla	-0.33	-
Jačina poremećaja	-	-0.49
Učestalost poremećaja	-0.46	-0.50
Učestalost košnje	-	-0.45
Poremećaj tla	-0.38	-0.43
Udio šumskih staništa	0.45	NA
Udio antropogenih staništa	-0.41	NA

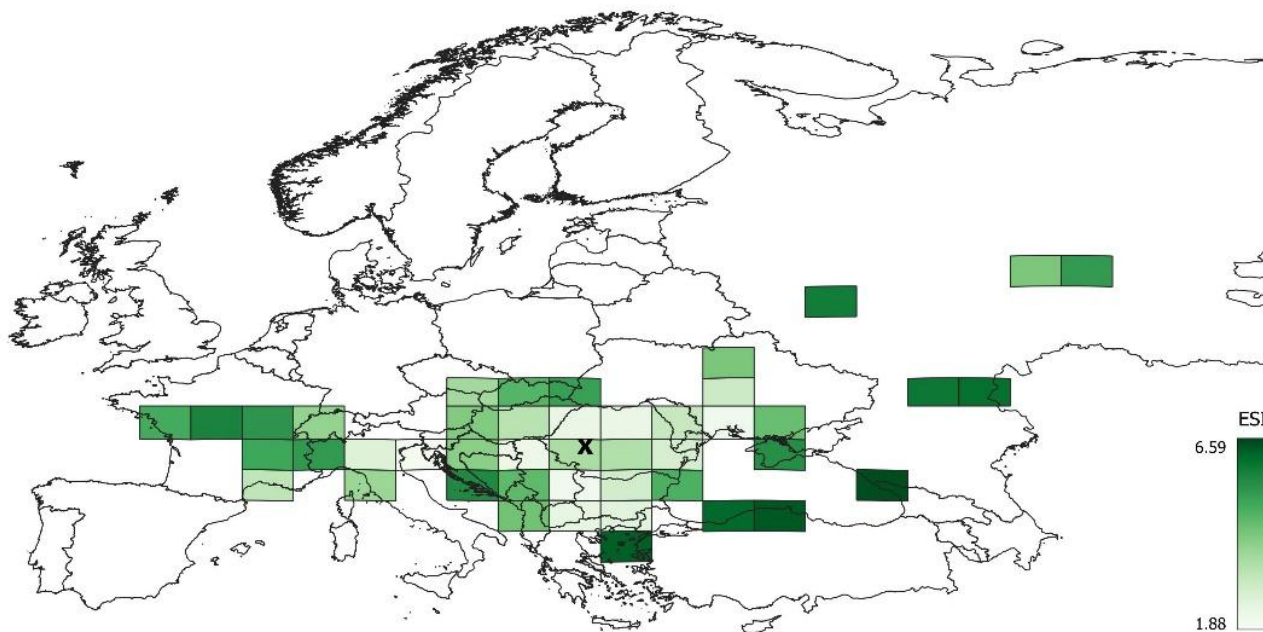
Prikazane su samo statistički značajne korelacije ($p < 0.05$).

Tablica 6 prikazuje statistički značajne Spearmanove korelacije između indeksa ekološke specijalizacije vrste (ESI) i dviju mjera ekološke niše, odnosno medijana i kvartilnog raspona analiziranih varijabli. Iz prikazanih podataka vidljivo je da su s vrijednostima ESI-ja uglavnom povezane negativne korelacije, što upućuje na to da se s porastom ekološke specijalizacije smanjuju vrijednosti pojedinih okolišnih pokazatelja ili širina njihova raspona. Negativna povezanost utvrđena je za EIV svjetlo, EIV reakciju tla, učestalost poremećaja i poremećaj tla kada se promatra odnos s medijanom, dok su za kvartilni raspon negativne korelacije zabilježene za EIV vlagu, jačinu poremećaja, učestalost poremećaja, učestalost košnje i poremećaj tla. Posebno se ističe učestalost poremećaja, koja pokazuje negativnu i statistički značajnu povezanost i s medijanom i s kvartilnim rasponom, što upućuje na njezinu važnu ulogu u određivanju ekološke niše vrste *Aristolochia clematitis*. S druge strane, udio šumskih staništa jedina je varijabla koja pokazuje pozitivnu korelaciju s medijanom ESI-ja, što sugerira da je veća ekološka specijalizacija vrste povezana s većim udjelom šumskih staništa. Nasuprot tomu, udio antropogenih staništa negativno je povezan s medijanom ESI-ja, što upućuje na to da se veća specijalizacija vrste smanjuje s porastom zastupljenosti antropogenih staništa. Tablica stoga pokazuje da su za ekološku nišu vrste *Aristolochia clematitis* osobito važni svjetlost, vlaga, reakcija tla i različiti aspekti poremećaja staništa, kao i odnos između prirodnijih, šumskih i antropogenih tipova staništa.



Slika 32. Veza između udaljenosti centroida pojedinih kvadranta (200×200 km) od geografskog središta distribucije vrste i ekološkog indeksa specijalizacije (ESI) u tom kvadrantu.

Plave točke predstavljaju pojedine kvadrante. Puna crvena linija prikazuje linearni regresijski trend između udaljenosti kvadranta od geografskog središta distribucije vrste i ekološkog indeksa specijalizacije (ESI), dok isprekidane crvene linije označuju 95 %-tni interval pouzdanosti regresijskog pravca. U gornjem desnom dijelu slike prikazani su koeficijent determinacije ($r^2 = 0,29$) i razina statističke značajnosti ($p < 0,001$). Na apscisi je prikazana udaljenost od geografskog središta distribucije vrste, izražena u stotinama kilometara, a na ordinati vrijednost ekološkog indeksa specijalizacije (ESI).



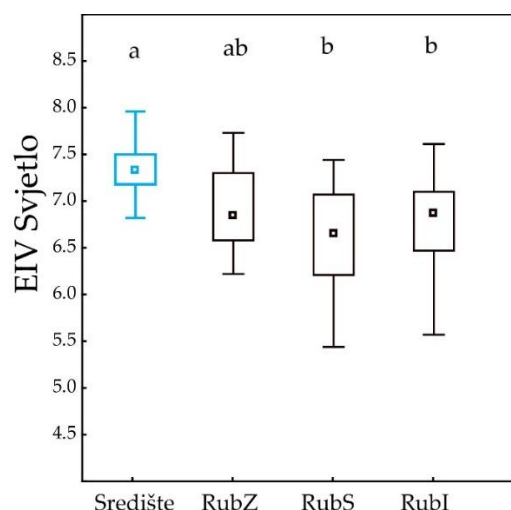
Slika 33. Vrijednosti ekološkog indeksa specijalizacije (ESI) u analiziranim kvadrantima 200 x 200 km.

Znak x prikazuje geografsko središte svih analiziranih vegetacijskih snimki. ESI vrijednosti su prikazane različitim nijansama zelene boje u rasponu od 1.88 do 6.59. Veće ESI vrijednosti ukazuju da vrsta dolazi u manjem broju različitih staništa, odnosno da ima užu ekološku nišu.

4.2.3. Razlike između ruba i središta područja distribucije

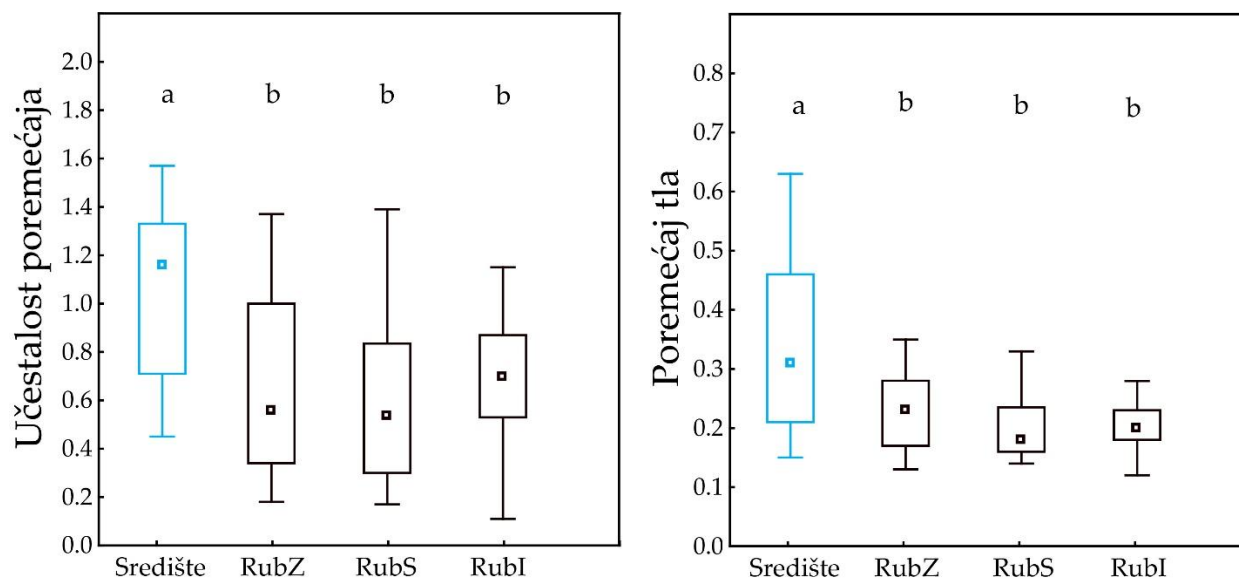
Analiza pokazuje da je u rubnim regijama areala vrsta *Aristolochia clematitis* značajno specijaliziranija ($p < 0,001$). ESI vrijednosti u rubnim kvadrantima kreću se od 3,4 do 4,9 (srednja vrijednost 4,3), dok su u središnjim kvadrantima znatno niže – od 1,8 do 3,8 (srednja vrijednost 2,9). U središnjim dijelovima areala vrsta se pojavljuje u većem broju staništa ($p = 0,045$) i vegetacijskih razreda ($p = 0,029$), što također ukazuje na širu ekološku nišu u tim regijama. U rubnim područjima vrsta se češće nalazi u šumskim staništima ($p = 0,003$), pri čemu je ekološki optimum pomaknut prema nižim vrijednostima svjetlosnog gradijenta (slika 32). Nasuprot tome, u središnjem dijelu vrsta *Aristolochia clematitis* češće nastanjuje antropogena staništa što rezultira širim ekološkim spektrom i višim vrijednostima za poremećaje tla i učestalost poremećaja (slika 33). To se ponajviše odnosi na veću prisutnost na oranicama i okapavinama (npr. biljne zajednice vegetacijskih

razreda *Papaveretea rhoeadis* i *Digitario sanguinalis-Eragrostietea minoris*) te unutar jednogodišnjih ruderalnih zajednica (razred *Sisymbrietea*). Na rubovima areala *Aristolochia clematitis* ne dolazi na staništima gdje je izražen jaki antropogeni utjecaj u smislu poremećaja tla (kopanja, oranja i sl.), dok u središtu areala, dakle u području BEN-a dolazi na različitim staništima koji imaju različit intenzitet i učestalost poremećaja (engl. *ecological disturbance*). Što je najvažnije tu dolazi i na staništima s visokim intenzitetom i učestalošću poremećaja, dakle tamo gdje se stalno okreće tlo i oštećuje biomasa.



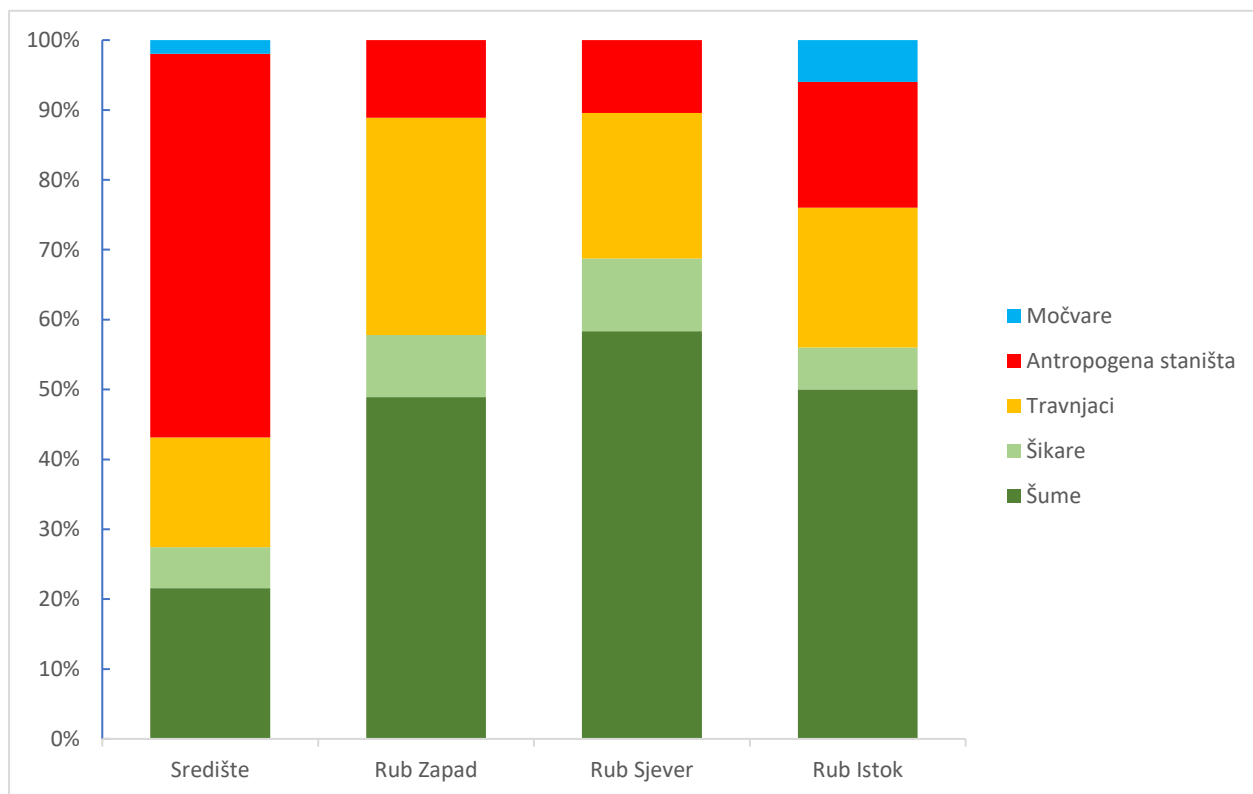
Slika 34. Box i Whiskers dijagrami koji prikazuju razlike u Ellenbergovim indikatorskim vrijednostima (EIV) za svjetlo između središnjeg i rubnih dijelova areala

RubZ označava zapadni, RubS sjeverni, a RubI istočni rub areala. Na dijagramima su prikazane medijane, 25 - 75 % kvartili i raspon vrijednosti. Mala slova označavaju homogene skupine dobivene višestrukom usporedbom srednjih rangova. Skupine označene istim slovom ne razlikuju se statistički značajno odnosno skupina „ab“ je prijelazna skupina između „a“ i „b“ i ne razlikuje se statistički niti od jedne niti od druge skupine. Skupine bez zajedničkog slova odnosno skupina „a“ u odnosu na skupinu „b“ statistički se značajno razlikuju ($p < 0.05$).



Slika 35. Box i Whiskers dijagrami koji prikazuju razlike u indikatorskim vrijednostima za poremećaj staništa između središnjeg i rubnih dijelova areala

RubZ označava zapadni, RubS sjeverni, a RubI istočni rub areala. Na dijagramima su prikazane medijane, 25 - 75 % kvartili i raspon vrijednosti. Mala slova označavaju homogene skupine dobivene višestrukom usporedbom srednjih rangova; skupine označene istim slovom „b“ ne razlikuju se međusobno statistički značajno, dok se skupina „a“ u odnosu na skupine „b“ statistički značajno razlikuju ($p < 0.05$).



Slika 36. Postotni udio pojedinih tipova staništa u središnjem i rubnim dijelovima areala

Slika 36 prikazuje postotni udio pojedinih stanišnih tipova prema EUNIS klasifikaciji razine 1 u središnjim i rubnim područjima istraživanog prostora. Iz grafikona je vidljivo da u svim promatranim rubnim područjima najveći udio zauzimaju šume za razliku od središnjeg dijela gdje najveći udio zauzimaju antropogena staništa. U rubnim područjima, osobito na sjeveru i zapadu, šume su znatno zastupljenije nego u središnjim područjima. Uz šume, važan udio čine travnjaci i antropogena staništa, pri čemu su antropogena staništa izraženije zastupljena u središnjim područjima, dakle u dijelu gdje se nalaze BEN žarišta, dok su u rubnim dijelovima prisutna u manjem udjelu. Močvare, šikare i travnjaci zastupljeni su u različitim omjerima između pojedinih područja, što upućuje na prostornu raznolikost stanišne strukture. U središnjim područjima uočava se veća heterogenost stanišnih tipova, dok u rubnim područjima prevladavaju prirodnija staništa, ponajprije šume, uz manje udjele ostalih tipova. Ovakav raspored pokazuje da se središnja i rubna

područja razlikuju prema sastavu i prostornoj zastupljenosti staništa, što može biti važno za razumijevanje ekoloških odnosa i raspodjele vrsta unutar istraživanog prostora. *Aristolochia clematitis* na rubovima areala u više od 50 % slučajeva dolazi u šumama i šikarama, a rijetka je na antropogenim staništima, dok u središtu gdje dolazi BEN često dolazi upravo na antropogenim staništima kao što su oranice i vrtovi ali i rubovi puteva te poljoprivredne površine.

4.2.4. Prisutnost biljke *Aristolochia clematitis* na poljoprivrednim površinama

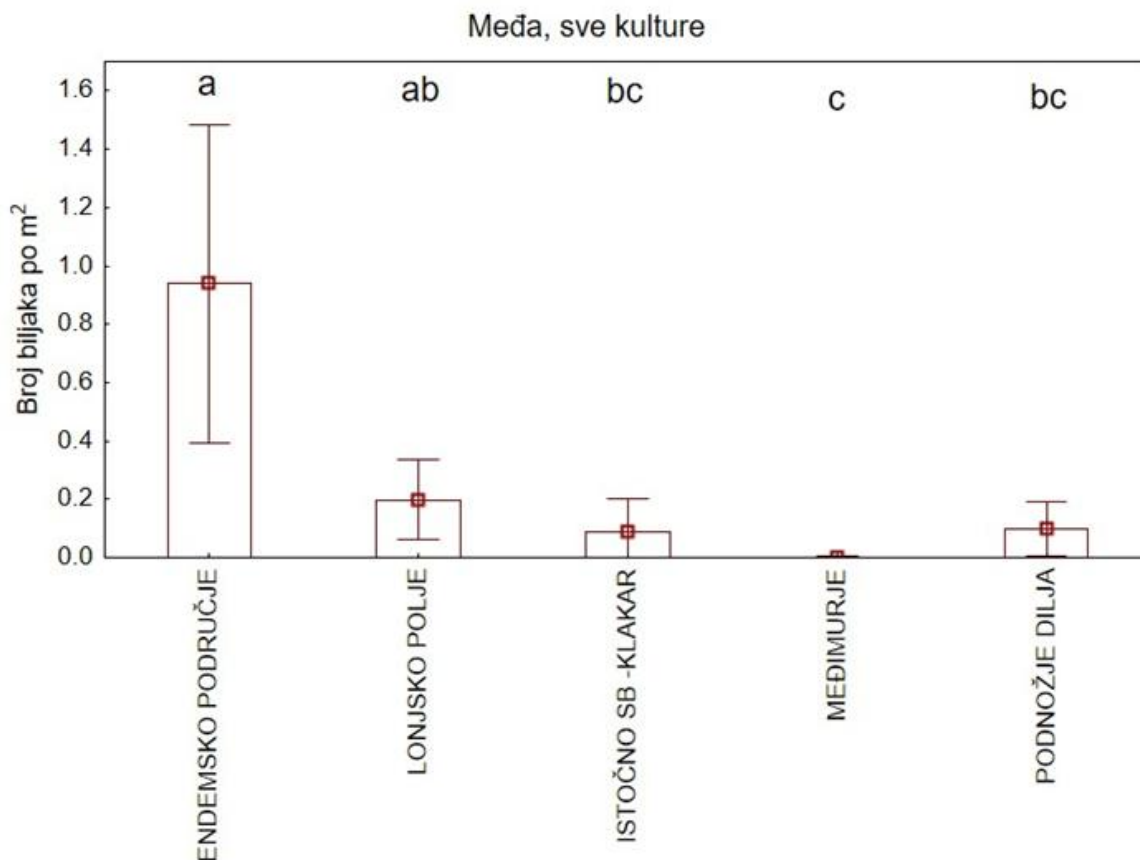
Temeljem terenski prikupljenih i analiziranih podataka o prisutnosti biljke *Aristolochia clematitis* te dobivenih rezultata, mogu se primijetiti statistički značajne razlike između pojedinih istraživanih područja prema brojnom stanju biljki koje rastu na određenim dijelovima poljoprivrednih parcela i određenim poljoprivrednim kulturama. U tablici 8 razabire se kako se broj biljaka na poljoprivrednim površinama statistički značajno razlikuje između istraživanih područja na međama parcela te u pojasu 2 m od međe, uzimajući u obzir sve kulture kao i samo površine sa zasijanom pšenicom. Pri tome je najveći broj biljaka vučje stope po jedinici površine prisutan u endemskom području, dok je najmanji broj biljaka uvijek prebrojan u Međimurju. Slijedom navedenog, u endemskom području primijećen je najveći broj biljaka po m² na međi uzimajući u obzir sve poljoprivredne kulture (slika 37). Sukladno tome ovo područje se i statistički razlikuje od drugih istraživanih područja u kojima je na međi utvrđena znatno manja prisutnost biljki *Aristolochia clematitis* po m², osim od područja Lonjsko polje. Područje Međimurje s druge strane ima najmanji broj biljaka po m² te se statistički razlikuje od endemskog područja i Lonjskog polja. Područje Lonjsko polje po prisutnosti biljki *Aristolochia clematitis* nalazi se na drugom mjestu u poretku, iza endemskoga područja i bez statistički značajne razlike od endemskog područja. Neendemska područja - istočno od Slavanskoga Broda - Klakar, podnožje Dilja te Međimurje međusobno se statistički ne razlikuju prema broju biljki na međi.

Tablica 8. Rezultati Kruskal-Wallis-ovog H testa razlika u broju biljaka vučje stope na poljoprivrednim površinama između istraživanih područja.

Varijabla	Sve kulture		Pšenica	
	H	p	H	P
unutar 2 m	17.215	0.002	11,390	0.023
međa	33.766	<0.0001	19,696	0,001
van 2 m	8,369	0,078	4,354	0,056

Crvenom bojom su označene statistički značajne razlike ($p < 0.05$).

Statistički podaci prisutnosti biljaka *Aristolochia clematitis* na međi za sve poljoprivredne kulture zajedno pokazuju da je najveća prosječna brojnost utvrđena je na endemskom području, dok je najniža zabilježena na području Međimurja, gdje prisutnost biljaka gotovo izostaje. Područja Lonjskog polja, istočno od Slavonskoga Broda - Klakar i podnožje Dilja pokazuju međuvrijednosti, pri čemu su njihove aritmetičke sredine niže od endemskog područja, ali više od Međimurja. Statistička analiza, prikazana različitim slovima iznad stupaca, upućuje na postojanje značajnih razlika između pojedinih područja. Endemsko područje, označeno slovom „a”, statistički se razlikuje od Međimurja, koje je označeno slovom „c”, te od područja istočno od Slavonskoga Broda - Klakar i podnožje Dilja koja su označena slovima „bc” i prijelazna su prema području Međimurje označeno slovom „c”. Područje Lonjsko polje s oznakom „ab” zauzima prijelazni položaj prema endemskom području i razlikuje se značajno od skupine Međimurje označeno slovom „c”. Takav raspored rezultata pokazuje da je pojava *Aristolochiae clematitis* na međama parcela ukupno gledano po svim poljoprivrednim kulturama najizraženija na endemskom području, dok je na ostalim lokalitetima slabije zastupljena ili gotovo odsutna.

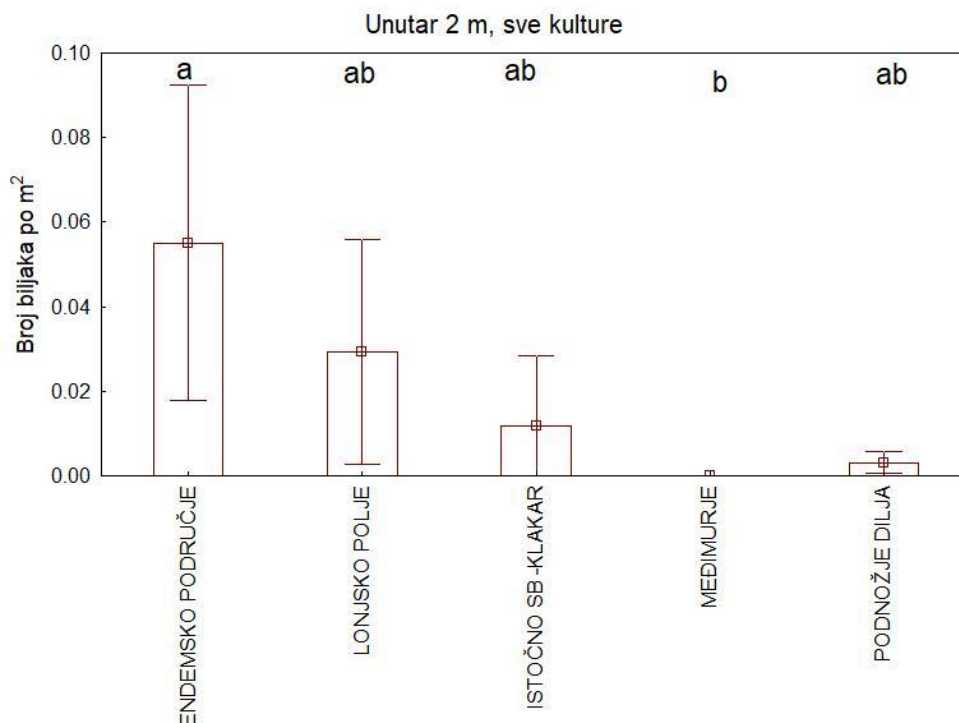


Slika 37. Broj *Aristolochia clematitis* na istraživanim područjima na međi uzimajući u obzir sve ratarske kulture

Na slici su prikazane aritmetičke sredine i 90 % intervali pouzdanosti za svako područje. Mala slova označavaju homogene skupine dobivene višestrukom usporedbom srednjih rangova; skupine označene istim zajedničkim slovom ne razlikuju se statistički značajno, dok se skupine bez zajedničkog slova statistički značajno razlikuju ($p < 0.05$).

Statistički podaci prisutnosti biljaka *Aristolochia clematitis* unutar dva metra od međe za sve poljoprivredne kulture zajedno (slika 38) pokazuju da je najveća prosječna brojnost utvrđena je na endemskom području, dok je najmanja na području Međimurja, gdje prisutnost biljaka gotovo izostaje. Područja Lonjskog polja, istočno od Slavonskoga Broda - Klakar i podnožje Dilja pokazuju međuvrijednosti, pri čemu su njihove aritmetičke sredine manje od endemskog područja, ali veće od Međimurja. Statistička analiza, prikazana različitim slovima iznad stupaca, upućuje na postojanje značajnih razlika između pojedinih područja. Endemsko područje, označeno slovom „a”, statistički se razlikuje od Međimurja,

koje je označeno slovom „b”, dok ostala područja s oznakom „ab” zauzimaju prijelazni položaj i ne razlikuju se značajno ni od jedne ni od druge skupine. Takav raspored rezultata pokazuje da je pojava *Aristolochiae clematidis* uz rubne dijelove parcela najizraženija na endemskom području, dok je na ostalim lokalitetima slabije zastupljena ili gotovo odsutna.

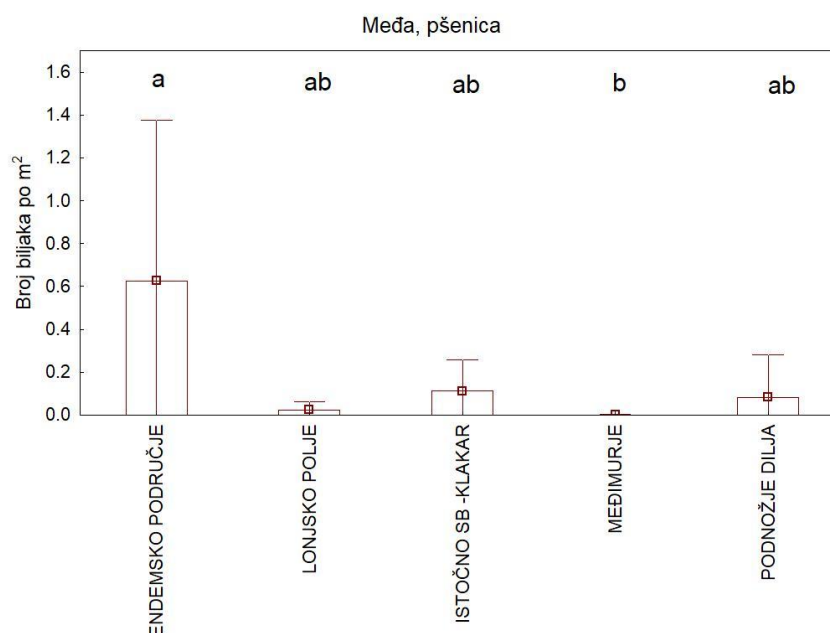


Slika 38. Broj *Aristolochia clematidis* na istraživanim područjima unutar 2 m od međe uzimajući u obzir sve ratarske kulture

Na slici su prikazane aritmetičke sredine i 90 % intervali pouzdanosti za svako područje. Mala slova označavaju homogene skupine dobivene višestrukom usporedbom srednjih rangova; skupine označene istim zajedničkim slovom ne razlikuju se statistički značajno, dok se skupine bez zajedničkog slova statistički značajno razlikuju ($p < 0.05$).

Statistički podaci prisutnosti biljaka *Aristolochia clematidis* na međi na poljoprivrednoj kulturi pšenica (slika 39) pokazuju da je najveća prosječna brojnost utvrđena na endemskom području, dok je najmanja na području Međimurja, gdje prisutnost biljaka gotovo izostaje. Područja Lonjskog polja, istočno od Slavanskoga Broda - Klakar i podnožje Dilja pokazuju međuvrijednosti, pri čemu su njihove aritmetičke sredine manje

od endemskog područja, ali veće od Međimurja. Statistička analiza, prikazana različitim slovima iznad stupaca, upućuje na postojanje značajnih razlika između pojedinih područja. Endemsko područje, označeno slovom „a”, statistički se razlikuje od Međimurja, koje je označeno slovom „b”, dok ostala područja s oznakom „ab” zauzimaju prijelazni položaj i ne razlikuju se značajno ni od jedne ni od druge skupine. Takav raspored rezultata pokazuje da je pojava *Aristolochiae clematidis* na međama parcela na kojima se uzgaja pšenica najizraženija na endemskom području, dok je na ostalim lokalitetima slabije zastupljena ili gotovo odsutna.

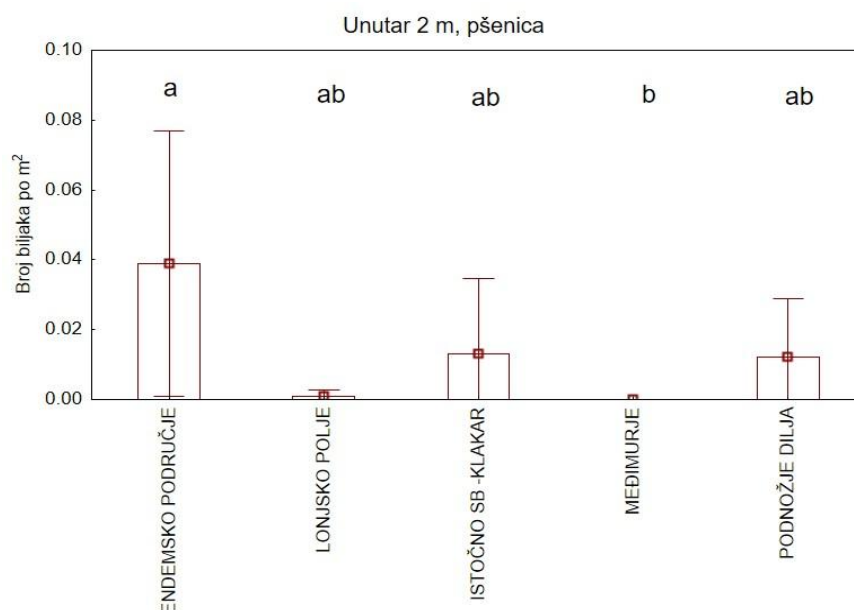


Slika 39. Broj *Aristolochia clematidis* na istraživanim područjima na međi uzimajući u obzir samo površine zasijane pšenicom

Na slici su prikazane aritmetičke sredine i 90 % intervali pouzdanosti za svako područje. Mala slova označavaju homogene skupine dobivene višestrukom usporedbom srednjih rangova; skupine označene istim zajedničkim slovom ne razlikuju se statistički značajno, dok se skupine bez zajedničkog slova statistički značajno razlikuju ($p < 0.05$).

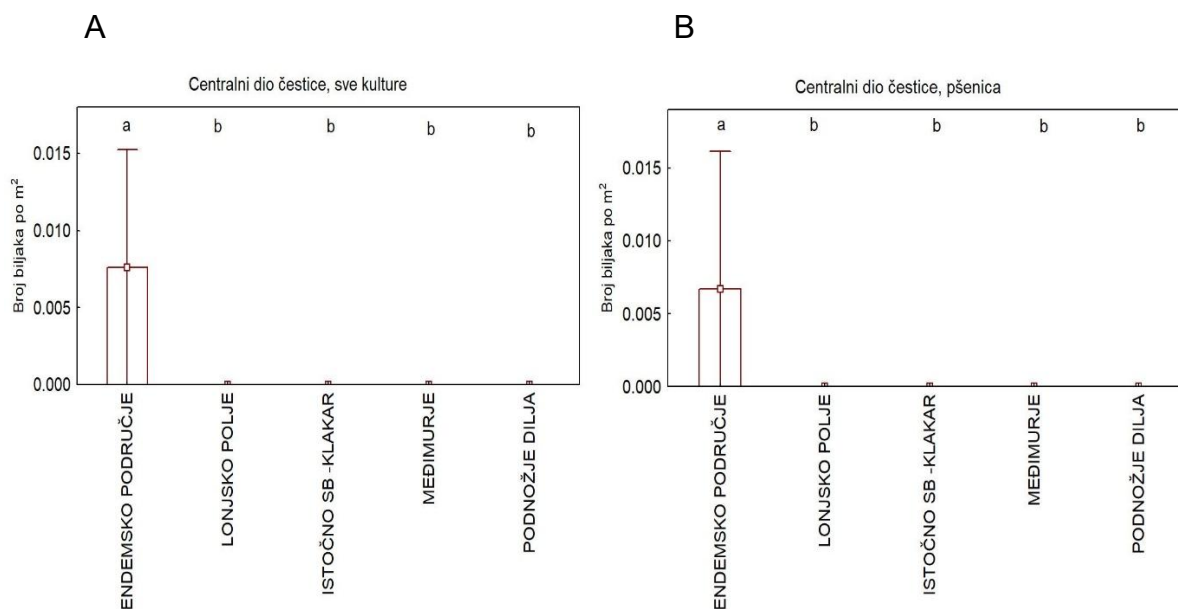
Statistički podaci prisutnosti biljaka *Aristolochia clematidis* unutar dva metra od međe na poljoprivrednoj kulturi pšenica (slika 40) pokazuju da je najveća prosječna brojnost utvrđena je na endemskom području, dok je najmanja na području Međimurja, gdje prisutnost biljaka gotovo izostaje. Područja Lonjskog polja, istočno od Slavenskoga Broda

- Klakar i podnožje Dilja pokazuju međuvrijednosti, pri čemu su njihove aritmetičke sredine manje od endemskog područja, ali veće od Međimurja. Statistička analiza, prikazana različitim slovima iznad stupaca, upućuje na postojanje značajnih razlika između pojedinih područja. Endemsko područje, označeno slovom „a”, statistički se razlikuje od Međimurja, koje je označeno slovom „b”, dok ostala područja s oznakom „ab” zauzimaju prijelazni položaj i ne razlikuju se značajno ni od jedne ni od druge skupine. Takav raspored rezultata pokazuje da je pojava *Aristolochiae clematidis* uz rubne dijelove parcela u pšenici najizraženija na endemskom području, dok je na ostalim lokalitetima slabije zastupljena ili gotovo odsutna.



Slika 40. Broj *Aristolochia clematidis* na istraživanim područjima unutar 2 m od međe uzimajući u obzir samo površine zasijane pšenicom

Na slici su prikazane aritmetičke sredine i 90 % intervali pouzdanosti za svako područje. Mala slova označavaju homogene skupine dobivene višestrukom usporedbom srednjih rangova; skupine označene istim zajedničkim slovom ne razlikuju se statistički značajno, dok se skupine bez zajedničkog slova statistički značajno razlikuju ($p < 0.05$).



Slika 41. Broj *Aristolochia clematitis* na istraživanim područjima u središnjem dijelu kada se promatraju polja neovisno o zasijanim kulturama (A) i polja zasijana pšenicom (B)

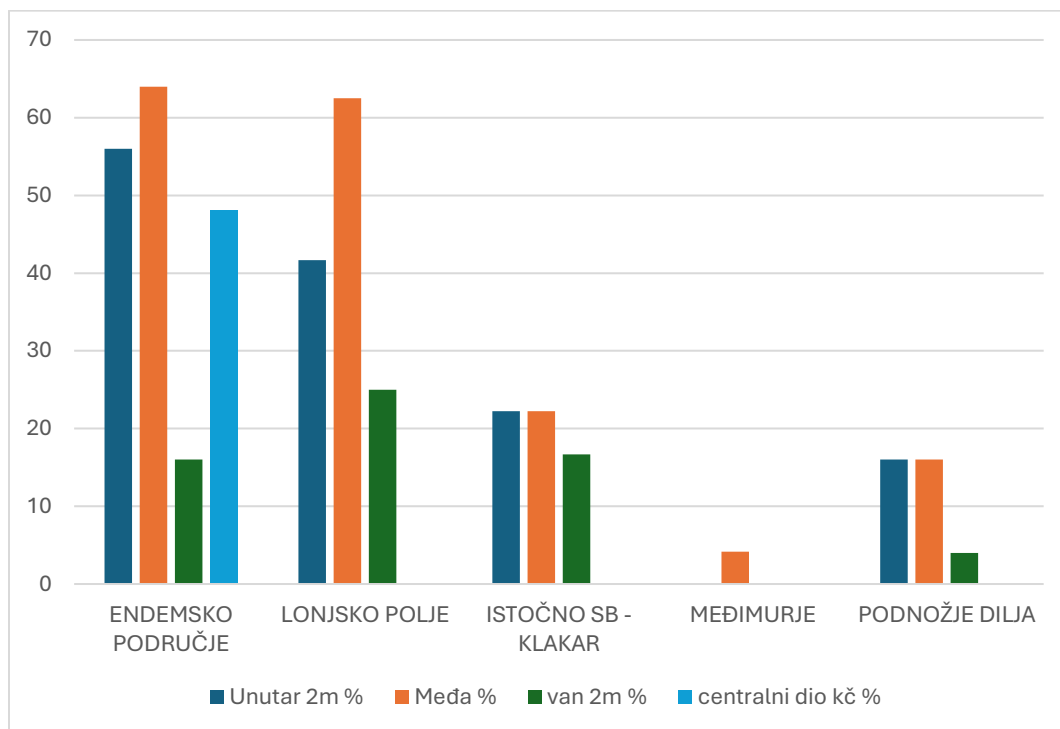
Na slici 41 razabire se kako je *Aristolochia clematitis* u središnjem dijelu prisutna samo u endemskom žarištu i u niti jednom od neendemskih područja.

Analizirajući podatke o katastarskim česticama na kojima je prisutna *Aristolochia clematitis* dobili smo rezultate (tablica 9) da se istraživana područja statistički značajno razlikuju po broju poljoprivrednih površina (čestica) na kojima je zabilježena vučja stopa i to na svim istraživanim dijelovima parcela osim u dijelu (van dva metra).

U endemskom području utvrđen je najveći broj čestica s biljkom *Aristolochia clematitis* (slika 42). To je ujedno i jedino područje u okviru istraživanja s prisutnom biljkom u centralnim dijelovima poljoprivrednih parcela gdje se prosječno javlja 0,0072 biljke/m². Na području Lonjskoga polja također je zabilježen vrlo veliki broj čestica na kojima vučja stopa raste na međi i unutar 2 m ali nisu zabilježene čestice na kojima raste u centralnom dijelu čestice. Najmanje čestica s prisutnom biljkom je zabilježeno na području Međimurja.

Tablica 9. Razlike između istraživanih područja s obzirom na postotni udio katastarskih čestica na kojima je prisutna *Aristolochia clematitis*

Varijabla	Hi-kvadrat	p
unutar 2 m	23,57	<0.0001
međa	32,72	<0.0001
van 2 m	9,33	0,0533
centralni dio katastarske čestice	48,72	<0.0001



Slika 42. Postotni udio katastarskih čestica na kojima je prisutna *Aristolochia clematitis* po istraživanim područjima

SB = Slavonski Brod

4.2.5. Prisutnost aristolohične kiseline u tlu i sjemenu pšenice u uzorcima iz endemskoga i neendemskoga kraja

U prvom dijelu istraživanju analizirano je 6 uzoraka sjemena pšenice i 6 pripadajućih uzoraka tla prikupljenih na katastarskoj čestici u katastarskoj općini Slavonski Kobaš. Uzorci 1–3 uzorkovani su s ploha na kojima je zajedno s pšenicom rasla *Aristolochia clematitis*, pri čemu je gustoća navedenih biljki iznosila 28, 10 i 25 biljaka/m², dok su uzorci 4–6 uzorkovani s ploha na kojima *Aristolochia clematitis* nije bila prisutna. Svi uzorci prikupljeni su na aluvijalnom tlu (fluvisol), obranjenom od poplava. Rezultati analize uzoraka pšenice i tla prikazani su u tablici 10. U nijednom od analiziranih uzoraka sjemena pšenice nije potvrđena prisutnost AA, dok je u uzorcima tla AA potvrđena samo u jednom uzorku.

Tablica 10. Broj biljaka *Aristolochia clematitis* po m² te prisutnost aristolohične kiseline u uzorcima sjemena pšenice i tla

Uzorak	K.O.	<i>Aristolochia clematitis</i> / m ²	Vrsta tla	Aristolohična kiselina u pšenici	Aristolohična kiselina u tlu
1	Slavonski Kobaš	28	Aluvijalno (fluvisol), obranjeno od poplava	nije potvrđena	potvrđena
2	Slavonski Kobaš	10	Aluvijalno (fluvisol), obranjeno od poplava	nije potvrđena	nije potvrđena
3	Slavonski Kobaš	25	Aluvijalno (fluvisol), obranjeno od poplava	nije potvrđena	nije potvrđena
4	Slavonski Kobaš	0	Aluvijalno (fluvisol), obranjeno od poplava	nije potvrđena	nije potvrđena
5	Slavonski Kobaš	0	Aluvijalno (fluvisol), obranjeno od poplava	nije potvrđena	nije potvrđena
6	Slavonski Kobaš	0	Aluvijalno (fluvisol), obranjeno od poplava	nije potvrđena	nije potvrđena

Napomena: Uzorci 1–3 uzorkovani su s ploha na kojima je zajedno s pšenicom rasla *Aristolochia clematitis* dok su uzorci 4–6 uzorkovani s ploha na kojima navedena biljka nije bila prisutna.

Nakon uzorkovanja provedeno je i probno vršenje pšenice kombajnom na rubnom dijelu parcele na kojem su uz pšenicu bile prisutne biljke vučje stope u fazi plodonošenja. Na toj su površini utvrđena ukupno 93 ploda vučje stope. Na 450 m² rubnoga dijela parcele izvršeno je ukupno 216 kg pšenice. U izvršenom sjemenu pšenice utvrđeno je 14 sjemenki *Aristolochia clematitis* i 68 g svježih ostataka ploda. Rezultati probnog vršenja prikazani su u tablici 11.

Tablica 11. Rezultati probnog vršenja pšenice kombajnom na rubnom dijelu parcele s prisutnom vrstom *Aristolochia clematitis*

Pokazatelj	Vrijednost
Broj utvrđenih plodova <i>Aristolochia clematitis</i>	93
Površina probnog vršenja	450 m ²
Količina izvršene pšenice	216 kg
Broj sjemenki <i>Aristolochia clematitis</i> u izvršenom sjemenu	14
Masa svježih ostataka ploda u izvršenom sjemenu	68 g

U analiziranim uzorcima sjemena pšenice nije utvrđena prisutnost AA-a, dok je u tlu utvrđena samo u jednom uzorku s plohe na kojoj je *Aristolochia clematitis* rasla zajedno s pšenicom. Istodobno je probnim vršenjem potvrđeno da sjemenke i svježi ostaci ploda *Aristolochia clematitis* mogu dospjeti među izvršeno sjeme pšenice.

U okviru ovoga dijela istraživanja provedena je usporedba sita suvremenoga kombajna i vršalice koja se nekada koristila u dvofaznoj vršidbi. Usporedba je pokazala da kombajn ima podesivi sustav sita unutar rešetnoga stana, pri čemu se otvor sita može regulirati, za razliku od vršalice kod koje su sita jednostavnije konstrukcije i s fiksnim otvorima. Takva je razlika važna jer jasno pokazuje tehnološki napredak u sustavu čišćenja i odvajanja zrna. Mogućnost podešavanja otvora sita kod suvremenoga kombajna omogućuje precizniju prilagodbu različitim vrstama usjeva, veličini zrna i količini nečistoća, čime se postiže učinkovitija separacija i smanjuju gubici. Nasuprot tome, kod vršalice su zbog jednostavnije konstrukcije i fiksnih otvora mogućnosti prilagodbe bile znatno manje, pa je

i sam postupak odvajanja bio manje precizan. Ova usporedba stoga pokazuje da razvoj mehanizacije nije značio samo veću radnu učinkovitost, nego i višu razinu kontrole nad kvalitetom izdvojenoga zrna. Prikaz sita kod kombajna i vršalice prikazan je na slici 42.



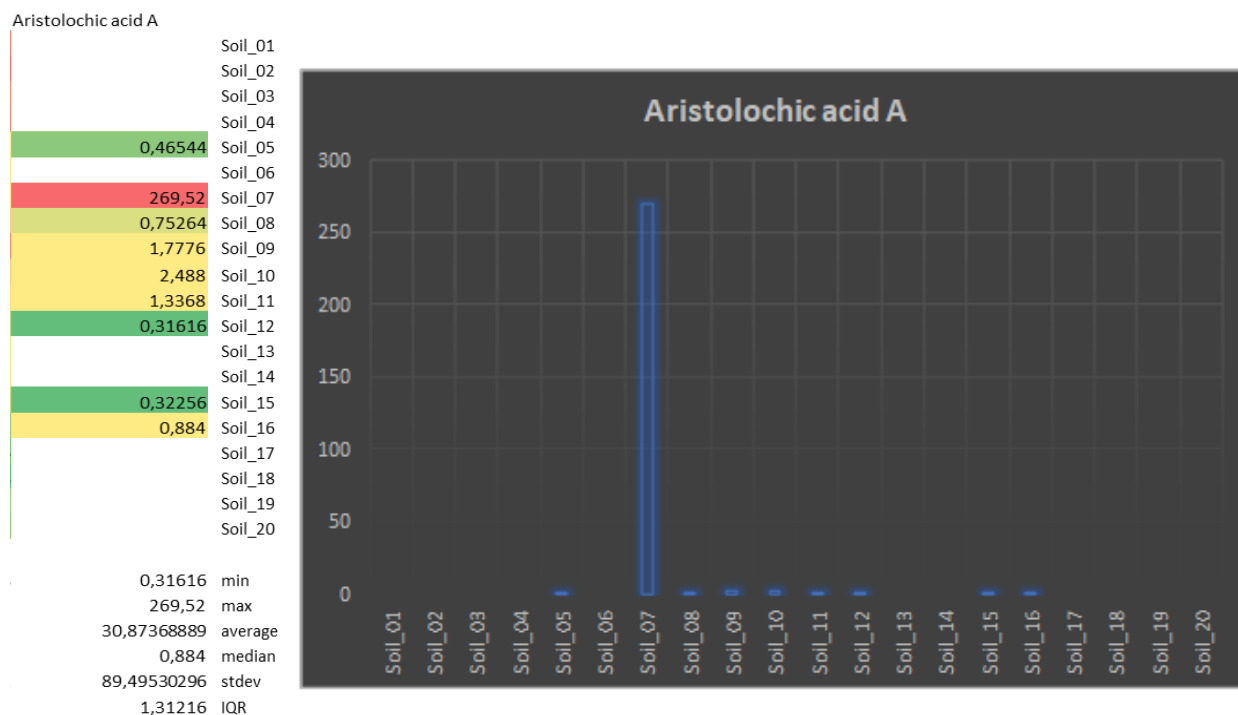
a)



b)

Slika 43. Usporedba sita suvremenoga kombajna i vršalice koja se koristila u dvofaznoj vršidbi **a)** Podesivo sito suvremenoga kombajna **b)** Sito vršalice s fiksnim otvorima (fotografije Ivan Brzić, 2022).

U drugom dijelu istraživanja u niti jednom uzorku sjemena pšenice nije potvrđena prisutnost AA-a. U uzorcima tala na kojima je uz pšenicu rasla *Aristolochia clematitis* utvrđena je prisutnost AA-I, dok nije utvrđena prisutnost AA-II. Analiza prisutnosti AA-I pokazala je da je pozitivno devet uzoraka, odnosno da je AA utvrđena u 45,0 % uzoraka tala. Mann-Whitney-ev U test pokazao je da ne postoje značajne razlike u broju pozitivnih uzoraka između endemskog i neendemskog područja. Vrijednosti sadržaja AA-I u pozitivnim uzorcima kreću se od 0,32 do 269,52 µg/kg s medijanom od 0,88 µg/kg (slika 44, tablica 12). Sadržaj AA u tlu raste s povećanjem broja biljaka *Aristolochia clematitis* koje su utvrđene na poljima s kojih su uzeti uzorci tla (slika 45).



Slika 44. Vrijednosti aristolohične kiseline u uzorcima tala

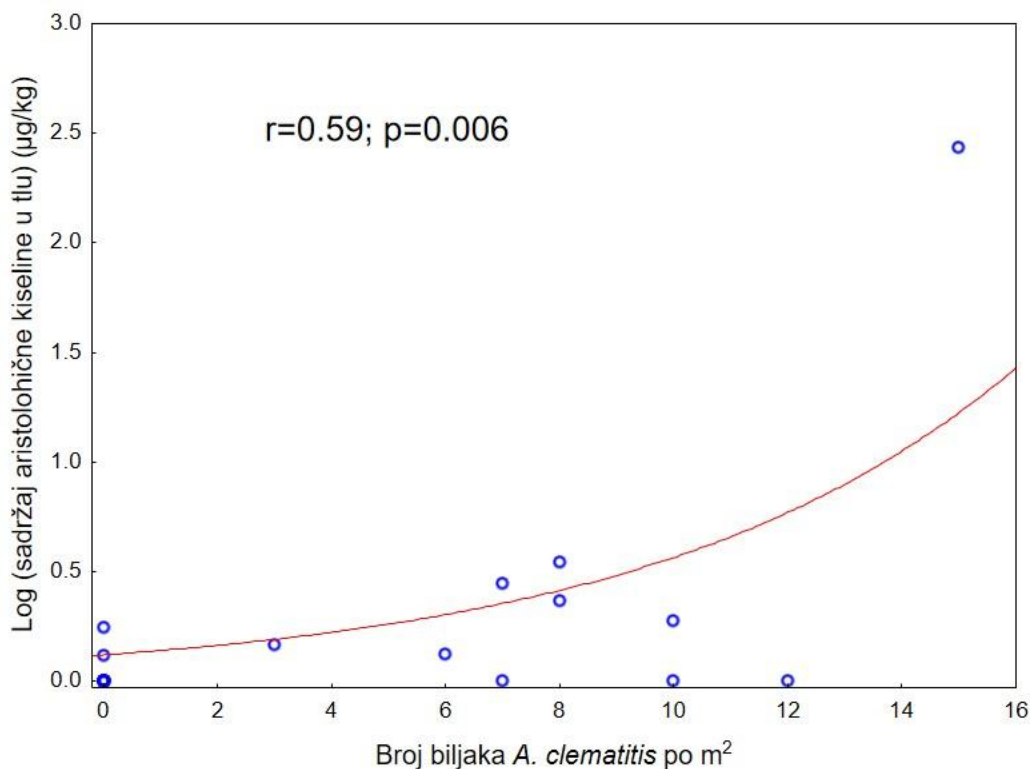
Tablični i grafički prikaz potvrđuje da su koncentracije AA-I u pozitivnim uzorcima vrlo varijabilne i kreću se od 0,32 do 269,52 µg/kg, dok medijan iznosi 0,88 µg/kg, što upućuje na to da je većina pozitivnih uzoraka imala niske koncentracije AA-I. Visoka maksimalna vrijednost pokazuje da u pojedinim uvjetima može doći do značajnijeg nakupljanja AA-I. Bojama označene vrijednosti u tablici vizualno naglašavaju razlike između niskih, umjerenih i izrazito visokih koncentracija, pri čemu se najviša vrijednost jasno izdvaja kao dominantan nalaz. Rezultati pokazuju da prisutnost AA-I u tlu nije ravnomjerno raspoređena, nego se javlja u pojedinim uzorcima ovisno o prisutnosti i gustoći biljke *Aristolochia clematitis*.

Tablica 12. Prisutnost aristolohične kiseline (AA-I) u uzorcima tla na endemskom i ne-endemskom području

	Ukupan broj uzoraka	Broj uzoraka s utvrđenom arist. kiselinom	Postotak uzoraka s utvrđenom arist. kiselinom	Medijan* (µg/kg)	Minimalne vrijednosti* (µg/kg)	Maksimalne vrijednosti (µg/kg)*
Endemsko područje	12	5	41.7	1.34	0.32	2.49
Neendemsko područje	8	4	50.0	0.82	0.32	269.52
Ukupno	20	9	45.0	0.88	0.32	269.52

* Vrijednosti statističkih pokazatelja odnose se samo na uzorke u kojima je utvrđena aristolohična kiselina

Tablica 12 prikazuje prisutnost AA-I u uzorcima tala prikupljenima na endemskom i neendemskom području. Iz podataka je vidljivo da je AA utvrđena u 9 od ukupno 20 analiziranih uzoraka, što čini 45,0 % svih uzoraka. Na endemskom području analizirano je 12 uzoraka, pri čemu je prisutnost AA potvrđena u 5 uzoraka (41,7%). Na neendemskom području analizirano je 8 uzoraka, a AA je utvrđena u 4 uzorka, što čini 50,0 % uzoraka. Prema prikazanim vrijednostima, medijan koncentracije AA-I bio je veći na endemskom području i iznosio je 1,34 µg/kg, dok je na neendemskom području iznosio 0,82 µg/kg. Tablica pokazuje da je prisutnost AA-I utvrđena u približno podjednaku udjelu uzoraka na oba područja. Takav rezultat upućuje na to da pojava AA-I nije ograničena isključivo na endemska područja, nego se može javiti i izvan njih, uz povremeno vrlo visoke pojedinačne koncentracije.

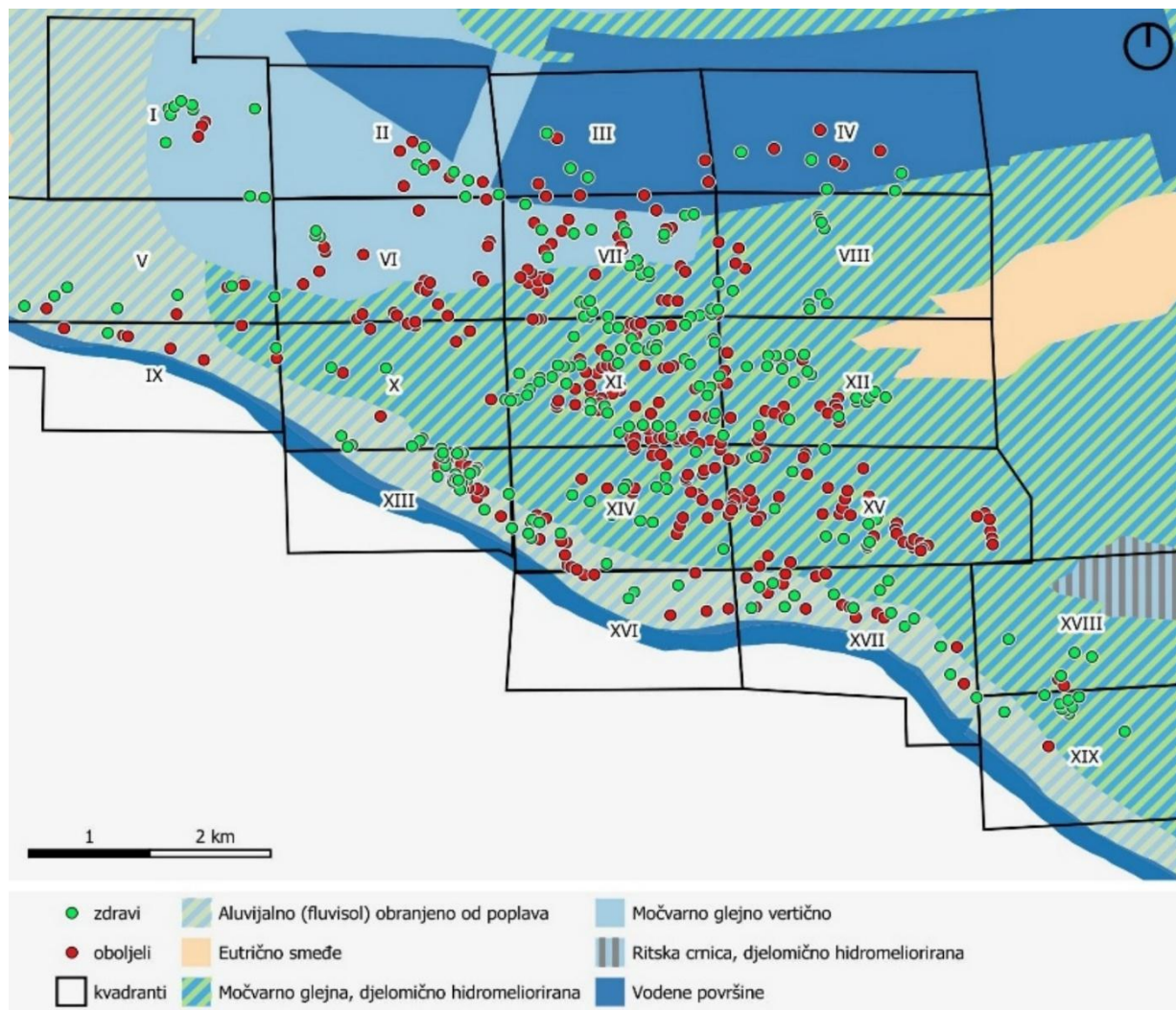


Slika 45. Prikaz ovisnosti broja biljaka *Aristolochia clematitis* i sadržaja aristolohične kiseline u tlu

Slika 45 prikazuje ovisnost broja biljaka *Aristolochia clematitis* po jedinici površine i logaritmiranog sadržaja AA-a u tlu. Slika ukazuje na umjereno jaku i statistički značajnu pozitivnu povezanost između promatranih varijabli ($r = 0,59$; $p = 0,006$). To znači da se s povećanjem brojnosti biljaka *Aristolochia clematitis* povećava i sadržaj AA-a u tlu. Iako se na pojedinim mjernim točkama uočava određena raspršenost podataka, trenda krivulja jasno pokazuje uzlazni smjer, pri čemu je porast izraženiji pri većim vrijednostima brojnosti biljaka.

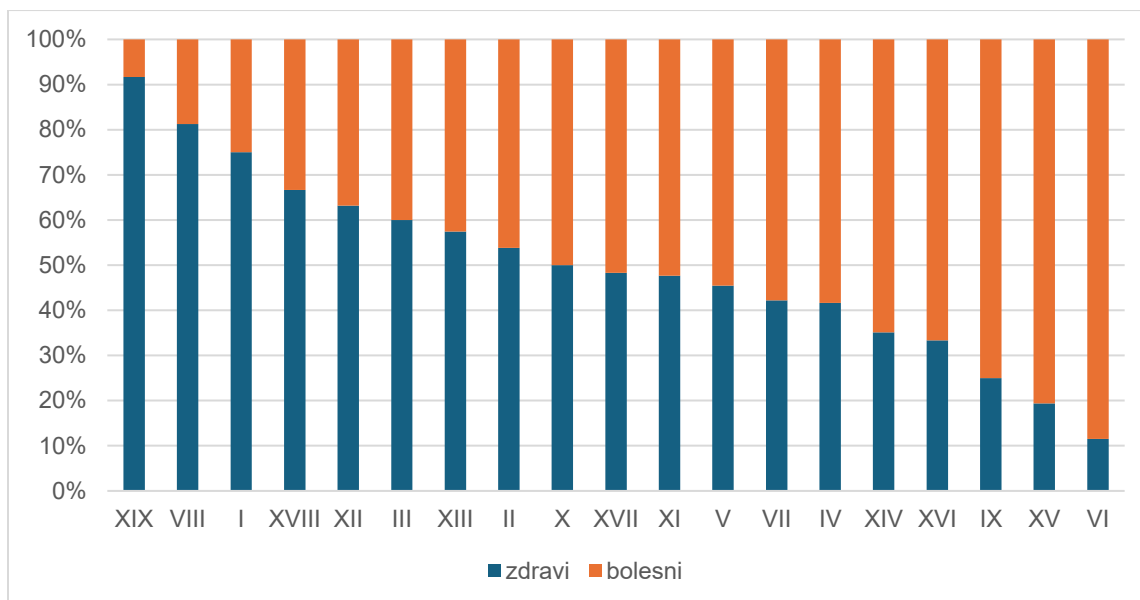
4.2.6. Prostorno korištenje zemljišta skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi

Na slici 45 prikazan je katastarskih položaj čestica stanovnika endemskoga žarišta u pojedinim kvadrantima s naznačenim vrstama tala.



Slika 46. Prostorni raspored posjednika poljoprivrednih površina iz skupina bolesni (crveni kružić) i zdravi (zeleni kružić) na području katastarske općine Slavonski Kobaš prije 1960.

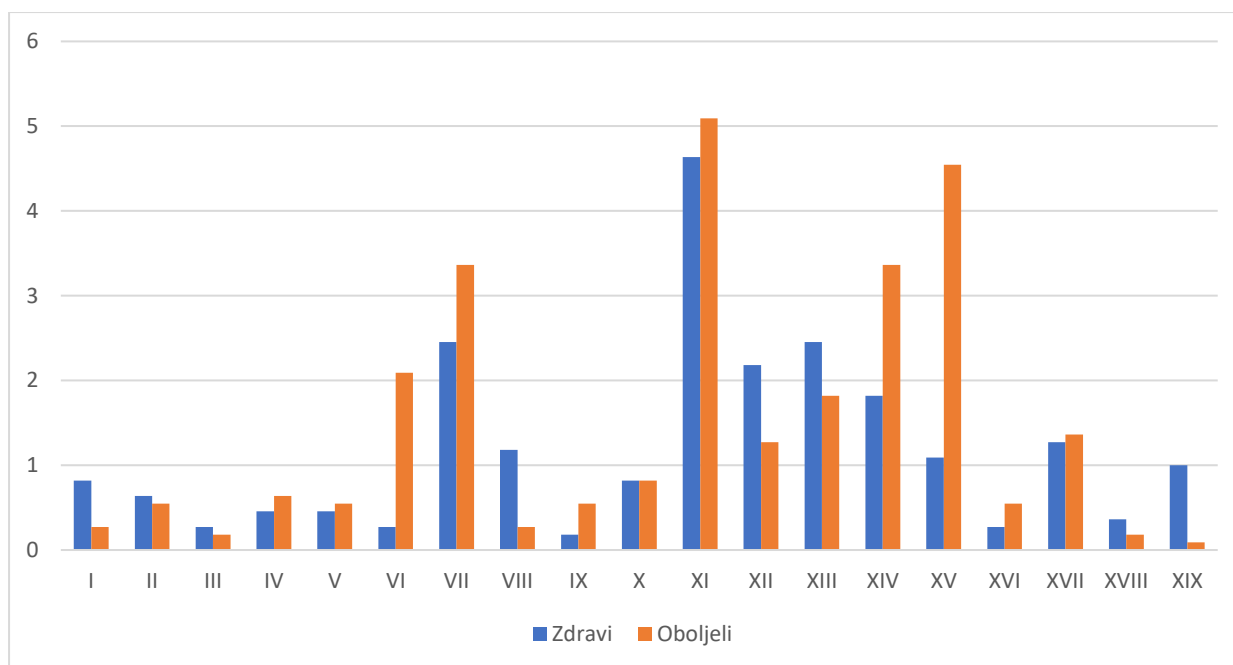
(Upute za rad, pedološka Gis baza podataka, Zavod za pedologiju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb 1996.)



Slika 47. Postotni udio čestica skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi prema prostornoj pojavnosti.

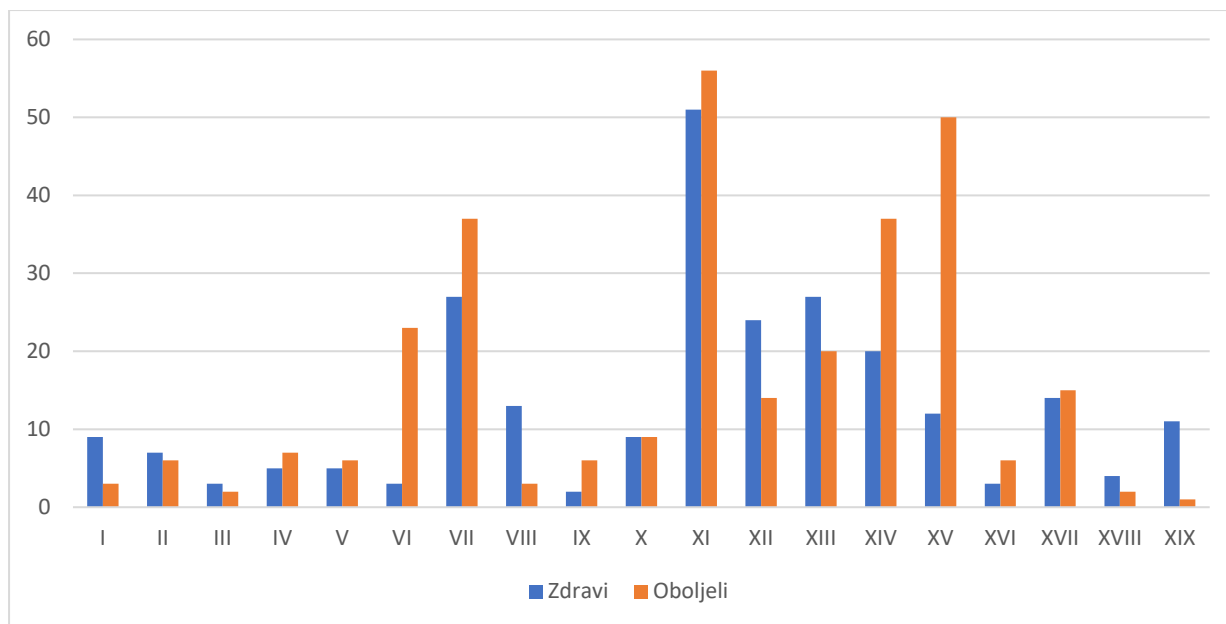
Na apscisi brojevima I – XIX označeni prostorni kvadranti na karti, na ordinati postotni udjeli pripadnosti čestica zdravima i bolesnima.

Slika 47 prikazuje relativni, odnosno postotni udio katastarskih čestica koje pripadaju skupini zdravih i skupini bolesnih/sumnjivih prema njihovim prostornim lokacijama prikazanim (kvadrantima I – XIX). Rezultati pokazuju izraženu varijabilnost u zastupljenosti ovih dviju skupina. Kod dijela kvadranta (I, III, VIII, XII, XIII, XVIII, XIX) dominiraju čestice zdravih, što upućuje na područja s povoljnijim uvjetima za proizvodnju i s manje prisutne AA-e u žitaricama od kojih se izrađivao kruh i drugi prehrambeni proizvodi, dok je kod drugih kvadranta (IV, VI, IX, XV, XIV, XVI) zabilježen povećan udio bolesnih. U cjelini promatrano, slika jasno pokazuje prijelaz od područja (kvadranta) s visokim udjelom zdravih prema područjima (kvadrantima) s većim udjelom bolesnih što omogućuje procjenu kvalitativnih razlika među analiziranim skupinama.



Slika 48. Prosječan broj čestica skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi prema prostornom rasporedu (kvadrantima)

Slika 48 prikazuje prosječan broj čestica svrstanih u skupinu zdravih i skupinu bolesnih/sumnjivih prema pojedinim prostornim lokacijama (kvadrantima). Rezultati pokazuju izraženu varijabilnost među kvadrantima, kako u brojnosti zdravih koji koriste zemljište unutar pojedinih kvadranta, tako i u brojnosti oboljelih koji koriste zemljišta unutar određenih kvadranta. U dijelu kvadranta veći je prosječan broj zdravih koji koriste svoje čestice, dok se u drugim kvadrantima bilježi dominacija oboljelih i sumnjivih, što ukazuje na razlike u promatranim područjima vezanim za zdravstvenu ispravnosti uzgojenog prehrambenog materijala. Najizraženije vrijednosti prisutne su u nekoliko kvadranta u središnjem dijelu grafikona, gdje su prosjeci obiju skupina, osobito oboljelih, znatno veći nego u ostalim slučajevima. Slika pokazuje razlike u raspodjeli i intenzitetu zastupljenosti analiziranih skupina.



Slika 49 . Ukupan broj čestica skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi prema prostornom rasporedu (kvadrantima)

Slika 49 i tablica 13 prikazuje ukupnu brojnost čestica koja pripada skupini zdravih i skupini oboljelih/sumnjivih prema prostornom rasporedu (kvadrantima). Rezultati ukazuju na izraženu varijabilnost među kvadrantima odnosno u prostornom rasporedu korištenja zemljišta između zdravih i oboljelih. U nekim kvadrantima dominira skupina zdravih, dok je u drugima izražen veći broj oboljelih i sumnjivih, što ukazuje na razlike u zdravstvenoj ispravnosti i kvaliteti prehrambenog materijala uzgojenog na promatranim poljoprivrednim površinama. Najveće ukupne vrijednosti uočene u kvadrantima XI, XIV i XV, dok su u ostalim kvadrantima vrijednosti niže i ujednačenije. Slika pruža preglednu usporedbu ukupne raspodjele analiziranih skupina među pojedinim kvadrantima.

Tablica 13. Prikaz skupina bolesni i zdravih prema vrstama tala i prostornom rasporedu

kvadrant	Vrsta tla	zdravi	bolesni
I	Močvarno, glejno	9	3
II	Močvarno, glejno	7	6
III	Močvarno, glejno	3	2
IV	Močvarno, glejno	5	7
V	Ukupno	5	6
	Močvarno, glejno	1	4
	Aluvijanlo (fluvisol)	4	2
VI	Močvarno, glejno	3	23
VII	Močvarno, glejno	27	37
VIII	Močvarno, glejno	13	3
IX	Ukupno	2	6
	Močvarno, glejno	1	1
	Aluvijanlo (fluvisol)	1	5
X	Ukupno	9	9
	Močvarno, glejno	3	8
	Aluvijanlo (fluvisol)	6	1
XI	Močvarno, glejno	51	56
XII	Močvarno, glejno	24	14
XIII	Ukupno	27	20
	Močvarno, glejno	7	2
	Aluvijanlo (fluvisol)	20	18
XIV	Ukupno	20	37
	Močvarno, glejno	14	30
	Aluvijanlo (fluvisol)	6	7
XV	Močvarno, glejno	12	50
XVI	Aluvijanlo (fluvisol)	3	6
XVII	Ukupno	14	15
	Močvarno, glejno	2	4
	Aluvijanlo (fluvisol)	12	11
XVIII	Močvarno, glejno	4	2
XIX	Ukupno	11	1
	Močvarno, glejno	10	1
	Aluvijanlo (fluvisol)	1	0
Ukupno	Ukupno	261	307
	Močvarno, glejno	196	263
	Aluvijanlo (fluvisol)	65	50

Prostornom analizom prikupljenih podataka dobili smo rezultate da od ukupnoga broja čestica više pripada bolesnima nego „ostalima“ (56 % naspram 44 %) što govori u prilog tome da su se bolesni vjerojatno više bavili zemljoradnjom, ili su barem imali veću mogućnost baviti se zemljoradnjom, te je isto tako više vjerojatno da su mogli češće vidati biljku na livadama i poljima što je u skladu s odgovorima dobivenim upitnikom koji su provedeni tijekom perlustracija, a kasnije će biti detaljnije opisano. Bolesni imaju veći broj čestica (54,8 %) u središnjem dijelu gdje se nalazi močvarno, glejno tlo (kvadranti VI, VII,

XI, XII) i u dijelu uz Savu (59,0 %) gdje se nalazi i močvarno, glejno tlo i aluvijalno (fluvisol) tlo (kvadranti V, IX, X, XIII, XVI, XVII, XIX). Bolesni u odnosu na zdrave statistički značajno češće imaju čestice u kvadrantima koji se nalaze u središnjem dijelu, a zdravi u kvadrantima koji se nalaze uz Savu ($X^2 = 4,928$; $p=0,02$). Zdravi u odnosu na bolesne imaju statistički značajno češće čestice na aluvijalnom tlu (24,9 % naspram 16,2 % $X^2=7,083$; $p=0,007$), a bolesni na močvarnom, glejnom tlu. *Aristolochia clematitis* raste na raznim vrstama tala ali preferira vlažna dobro drenirana ilovasta tla. Glejno tlo i biljka *Aristolochia clematitis* usko su povezani u kontekstu specifičnih ekosustava nizinskih područja, gdje visoka razina podzemne vode diktira vegetaciju. Pšenica se isto uzgaja na dobro dreniranim ilovastim tlima jer ako se sije u jesen mora izdržati do ljeta bez poplava i previše vode [207]. To je u skladu s podacima koje smo dobili u upitniku da su bolesni češće viđali biljku vučju stopu od zdravih, te potkrepljuje hipotezu da je pšenica bolesnih češće mogla biti kontaminirana od pšenice zdravih. Prema upitniku provedenom tijekom perlustracije 2008. godine u selima Klakar, Donja Bebrina, Slavonski Kobaš, Živike i Pričac, članovi kućanstava gdje je bilo slučajeva bolesnih od BEN-a u periodu prije 1970. godine značajno su češće viđali biljku *Aristolochia clematitis* u poljima od ukućana vlasnika čestica gdje nije bilo slučajeva BEN-a („ostali“) (36,2 % naspram 21,7 %; $p=0,07$). U periodu nakon 2005. godine članovi kućanstava gdje je bilo slučajeva bolesnih od BEN-a, statistički značajno manje viđaju biljku *Aristolochia clematitis* u svojim poljima nego u periodu prije 1970. godine (23 % naspram 36,2 %; $p=0,02$) i razlike prema „ostalima“ nije statistički značajna (23 % naspram 13 %; $p>0,05$). I članovi kućanstava vlasnika čestica gdje nije bilo slučajeva BEN-a u periodu nakon 2025. godine danas značajno rjeđe viđaju biljku *Aristolochia clematitis* nego što su ju viđali u periodu prije 1970. godine (13 % naspram 21,7 %, $p<0,01$) Ukućani bolesnih u periodu prije 1970. godine češće su viđali sjemenke *Aristolochia clematitis* u sjemenkama pšenice od ukućana vlasnika čestica gdje nije bilo slučajeva BEN-a („ostali“) (18,5 % naspram 10,8 % ; $p>0,05$). U periodu nakon 2025. godine statistički značajno manje viđaju sjemenke biljke *Aristolochia clematitis* između sjemenke pšenice nego u periodu prije 1970. godine (7,9 % naspram 18,5 %; $p=0,01$) i razlika prema „ostalima“ nije statistički značajna (7,9 % naspram 4,3 %; $p>0,05$). I članovi kućanstava vlasnika čestica gdje nije bilo slučajeva BEN-a danas značajno

manje viđaju sjemenke biljke *Aristolochia clematitis* između sjemenki pšenice nego prije 20 godina (4,3 % naspram 10,8 %, $p < 0,01$). Podaci dobiveni u tom upitniku sukladni su zbirnim podacima iz svih endemskih i kontrolnih sela obuhvaćenih perlustracijama od 2005. do 2010. godine (tablica 14). Stanovnici endemskih sela u periodu prije 1970. godine su značajno češće opažali biljku *Aristolochia clematitis* u svojim poljima od stanovnika neendemskih sela (27,3 % naspram 16,9 %; $p = 0,015$). U periodu nakon 2005. godine stanovnici endemskih sela značajno rjeđe viđaju biljku *Aristolochia clematitis* u svojim poljima (27,3 % naspram 14,2 %, $p < 0,001$). I stanovnici neendemskih sela rjeđe viđaju biljku *Aristolochia clematitis* u svojim poljima, no razlika nije statistički značajna (16,9 % naspram 10,5 % $p > 0,05$). Stanovnici endemskih sela češće su viđali sjemenke biljke *Aristolochia clematitis* pomiješane sa sjemenkama pšenice od stanovnika neendemskoga sela, no razlika nije statistički značajna (44,7 % naspram 25 %, $p > 0,05$). U periodu nakon 2005. godine stanovnici i endemskih i neendemskih sela značajno češće navode da nikada ne viđaju sjemenke *Aristolochia clematitis* pomiješane sa sjemenkama pšenice u odnosu na period od prije 1970. godine, a ta je razlika statistički značajna u endemskom za razliku od neendemskog područja (91,6 % naspram 55,3 % $p < 0,001$, 75,0 % naspram 89 % $p > 0,05$). Stanovnici endemskih sela značajno su češće čuli za BEN od stanovnika neendemskog kontrolnoga sela (87,7 % naspram 75,8 %, $p < 0,001$).

	Endemsko područje (%)	Neendemsko područje (%)	p
Da li je u periodu prije 1970. godine na vašim poljima rasla vučja stopa ? da	27,3	16,9	0.015
Da li u periodu nakon 2005.godine na vašim poljima raste vučja stopa ? da	14,2	10.5	0,271
p (period prije 1970. godine vs. period nakon 2005.godine)	<0,0001	0,139	
Jeste li viđali njene sjemenke među sjemenjkama pšenice? Uvijek ponekad nikad	17,4 27,3 55,3	12,5 12,5 75,0	0,297
Viđate li u periodu nakon 2005.godine njene sjemenke među sjemenkama pšenice? Uvijek ponekad nikad	1,6 6,8 91,6	4,1 6,8 89,0	0,349
p (prije 1970. godine vs. 2005. godine)	<0,0001	0,289	
Jeste li ikad čuli za nefropatiju/nefritis?	87.7	75.8	<0.001

4.3. Promjene - napredak u tehnologiji žetve i prerade pšenice u endemskom kraju u XX. Stoljeću

U uvodnom dijelu kronološki je opisana dinamika tehnoloških napredaka, te u prilogu 7, slika 13S.

4.3.1. Karakteristike polja, te poljoprivredno tehnološki postupci uzgoja, skladištenja pšenice stanovnika endemskih i neendemskih sela, te promjene u odnosu na period prije 1970. godine

4.3.1.1. Podaci o kvaliteti polja i poljoprivredno-tehnološkim postupcima

Stanovnici endemskih sela u periodu prije 1970. godine značajno su češće imali polja koja su obrađivali od stanovnika neendemskog sela (79 % naspram 70,2 %, $p=0,031$) (tablica 15). U periodu nakon 2005. godine i jedni i drugi imaju značajno manje polja koja obrađuju. Polja stanovnika endemskih sela bila su nešto rjeđe plavljena od polja stanovnika neendemskih sela ($p=0,05$). U periodu nakon 2005. godine su polja stanovnika endemskih sela značajno rjeđe plavljena nego što su bila u periodu prije 1970. godine (55,9 % naspram 48,88 % $p<0,001$). Stanovnici endemskih sela imali su značajno rjeđe kvalitetna tla za obradu (57,7% naspram 73,3%) i češće močvarasta tla (19,4 % naspram 12,8 %) od stanovnika neendemskih sela ($p= 0,02$). U periodu nakon 2005. godine stanovnici endemskih sela značajno češće imaju kvalitetna tla (70,8% naspram 57,7%), a rjeđe močvarasta tla (8,7 % naspram 19,4 %) u odnosu na period od prije 30 godina ($p<0,0001$). Prije 1970. godine nije bilo razlike u učestalosti korištenja kombajna između stanovnika endemskih i neendemskog sela ($p>0,05$). Nije bilo razlika u početku korištenja kombajna između stanovnika endemskih i neendemskih sela. Stanovnici endemskih sela u periodu prije 1970. godine su značajno češće koristili herbicide od stanovnika neendemskog sela ($p=0,02$). U periodu nakon 2005. godine stanovnici i endemskih i neendemskih sela značajno češće koriste herbicide nego ranije ($p<0,001$) bez međusobnih razlika.

Tablica 15. Karakteristike polja, te poljoprivredno tehnološki postupci uzgoja pšenice stanovnika endemskih i neendemskih sela u periodima prije 1970. godine i nakon 2005. godine

	Endemsko područje (%)	Neendemsko područje (%)	p
Jeste li prije u periodu prije 1970. godine imali polja? da	79	70,2	0,031
Imate li sada polja? da ne imao prije	75,2 11,1 13,7	71,8 14,5 13,7	0,553
p (period prije 1970. vs. period nakon 2005. godine)	0,0001	0,013	
Ako ste imali polja, jesu li ikad bila plavljena? da	55,9	67,5	0,05
Jesu li u periodu nakon 2005. godine polja plavljena? da	48,8	64,8	0,006
p (period prije 1970. vs. period nakon 2005. godine)	<0,0001	<0,0001	
Ako ste imali polja, u kakva je zemlja obično bila? močvarasta dobra srednja	19,4 57,7 22,9	2,8 73,3 13,0	0,025
Ako u periodu nakon 2005. godine imate polja, u kakvom je stanju zemlja? močvarasta dobra srednja	8,7 70,8 20,5	3,3 76,7 20,0	0,207
p (period prije 1970. vs. period nakon 2005. godine)	<0,0001	0,05	
Jeste li u periodu prije 1970. godine sijali pšenicu na vašim poljima? da	70,3	69,4	0,837
Sijete li danas pšenicu na vašim poljima? da	59,6	66,4	0,182
p (period prije 1970. vs. period nakon 2005. godine)	<0,0001	0,624	
Ako ste u periodu prije 1970. godine sijali pšenicu, jeste li ga obrađivali kombajnom? da	56,9	58,9	0,678
Prije koliko godina su počeli koristiti kombajn u vašem selu? Koja godina?	29,1 ± 6,3 (1975,9. ± 6,3)	27,7 ± 5,9 (1977,2 ± 5,9)	0,963
Ako ste imali polja, jeste li upotrebljavali herbicide na vašim poljima? da	25,4	13,6	0,021
Ako imate polja, upotrebljavate li herbicide na poljima? da	97,1	97,2	0,774
p (period prije 1970. vs. period nakon 2005. godine)	<0,0001	<0,0001	

4.3.1.2. Podaci o skladištenju pšenice i korištenju mlinova

U periodu u periodu prije 1970. godine nije bilo razlika u učestalosti skladištenja pšenice između stanovnika endemskih i neendemskog sela ($p > 0,05$) (tablica 16). U periodu nakon 2005. godine i jedni i drugi značajno rjeđe sami skladište pšenicu, ali stanovnici endemskih sela češće sami skladište pšenicu od stanovnika neendemskog sela ($p < 0,001$). Stanovnici endemskih sela u periodu prije 1970. godine periodu češće su skladištili pšenicu na tavanu, a stanovnici neendemskog sela u hambaru ($p < 0,001$) dok u periodu nakon 2005. godine nema razlike. U periodu prije 1970. godine, u periodu nakon

2005. godine stanovnici endemskih sela značajno rjeđe skladište pšenicu na tavanu (63,8 % naspram 55,5 %; $p < 0,001$). U odnosu na period od prije 1970. godine stanovnici endemskih i neendemskog sela značajno češće navode da nikada ne melju svoju pšenicu (63 % naspram 61,2 % $p = 0,001$; 59,1 % naspram 76,4 % $p = 0,002$), a kada odvoze pšenicu u mlin i stanovnici endemskih i neendemskog sela značajno češće nikada ne dobivaju brašno od svoje pšenice (62,8 % naspram 97,1 % $p < 0,001$; 70,8% naspram 92,1% $p < 0,001$).

Tablica 16. Skladištenje pšenice i postupci prerađivanja (mljevenja) stanovnika endemskih i neendemskih sela u periodima prije 1970. godine i nakon 2005. godine

	Endemsko područje (%)			Ne-endemsko područje (%)			p
Jeste li u periodu prije 1970. godine skladištili pšenicu i ostale usjeve? Uvijek Ponekad Nikad	97,5	1,3	1,2	97,6	2,4	0	0,432
Skladištite li u periodu nakon 2005. godine pšenicu i ostale usjeve? Uvijek Ponekad Nikad	85,4	6,6	8,0	69,1	9,9	21,0	<0,001
	<0,001			<0,001			
Gdje ste u periodu prije 1970. godine čuvali usjeve? Tavan hambar ostalo	63,8	31,1	5,1	35,7	52,4	11,9	<0,001
Gdje u periodu nakon 2005. godine čuvate usjeve? Tavan hambar ostalo	55,8	25,7	18,5	12,1	66,7	21,2	0,056
	<0,001			<0,001			
Kakvi su u periodu prije 1970. godine bili prostori u kojima ste ih čuvali? Vlažni	87,0			86,7			0,582
Kakvi su u periodu nakon 2005. godine prostori u kojima čuvate usjeve? Vlažni	86,4			76,2			0,009
	0,08			0,174			
Jeste li u periodu prije 1970. godine sami mljeli svoju pšenicu? Uvijek Ponekad Nikad	34,2	2,9	63,0	38,7	2,2	59,1	0,671
Meljete li u periodu nakon 2005. godine sami svoju pšenicu? Uvijek Ponekad Nikad	24,0	4,7	71,2	16,9	6,7	76,4	0,279
	0,001			0,002			
Ako ste ga u periodu prije 1970. godine vozili u mlin, jeste li dobivali brašno od vaše pšenice? Uvijek Ponekad Nikad Ne znam	15,9	12,5	62,8 8,8	18,4	2,2	70,8 6,9	0,187
Ako ga u periodu nakon 2005. godine meljete u mlinu, dobivate li vašu pšenicu? Uvijek Ponekad Nikad Ne znam	1,1	1,1	97,1 0,7	0	9,0	92,1 0	0,031
	<0,001			<0,001			

Zbirno **stanovnici endemskih sela u periodu nakon 2005. godine u odnosu na period prije 1970. godine** rjeđe opažaju biljku *Aristolochia clematitis* u svojim poljima i rjeđe opažaju sjemenke *Aristolochia clematitis* pomiješane sa sjemenkama pšenice (tablica 17). Oni rjeđe imaju polja koja obrađuju nego što su ih obrađivali u periodu prije 1970. godine, te rjeđe uzgajaju pšenicu. Rjeđe navode da su im polja močvarasta i osrednja, a češće bolje kvalitete za obradu. Češće koriste kombajn i herbicide. Rjeđe sami skladište pšenicu, pogotovo rjeđe skladište pšenicu na tavanu, a češće u hambaru ili drugdje (silos), ali je prostor gdje ga skladište jednako je često vlažan. Rjeđe sami melju svoju pšenicu i gotovo nikada ne dobivaju brašno od svoje pšenice kada ga odnose u mlin. Češće kupuju kruh u trgovinama nego što ga sami peku.

Tablica 17. Zbirni prikaz razlika nakon 2005. godine u odnosu na period od prije 1970. godine - stanovnici endemskoga područja

	Period prije 1970. godine vs. period nakon 2005. godine
Opažanje biljke AC u poljima	↓
Opažanje sjemenki AC sa sjemenkama pšenice	↓
Obrađivanje polja	↓
Uzgajanje pšenice	↓
Kvaliteta tla	↑
Korištenje kombajna	↑
Korištenje herbicida	↑
Skladištenje pšenice u svom domaćinstvu	↓
Skladištenje na tavanu	↓
Skladištenje u hambaru	↑
Odvoz u silos	↑
Mljevenje pšenice kod kuće	↓
Dobivanje brašna od vlastite pšenice u mlinu	↓

AC = *Aristolochia clematitis*

Razlike između stanovnika endemskih sela u odnosu na neendemsko selo

prikazane su u tablici 18. Stanovnici endemskih sela ranije su češće opažali biljku *Aristolochia clematitis* u poljima i njene sjemenke pomiješane sa sjemenkama pšenice od stanovnika neendemskih sela, dok u periodu nakon 2005. godine nema razlika (i jedni i drugi značajno manje opažaju i biljku i sjemenke). Ranije su značajno češće obrađivali polja od stanovnika neendemskih sela, a u periodu nakon 2005. godine nema razlike (i jedni i drugi značajno manje obrađuju polja). Ranije su značajno češće uzgajali pšenicu, dok u periodu nakon 2005. godine nema razlika (i jedni i drugi značajno manje uzgajaju pšenicu). Zemljišta stanovnika endemskih sela ranije su značajno češće bila močvarasta i manje kvalitetna, a u periodu nakon 2005. godine nema razlika. Nema razlika u korištenju kombajna, u periodu nakon 2005. godine i jedni i drugi značajno češće koriste kombajn. Ranije su stanovnici endemskih sela značajno češće koristili herbicide, dok u periodu nakon 2005. godine nema razlika, i jedni i drugi u periodu nakon 2005. godine značajno češće koriste herbicide. U periodu nakon 2005. godine i jedni i drugi značajno rjeđe sami skladište pšenicu. Ranije su stanovnici endemskih sela češće skladištili pšenicu na tavanu nego stanovnici neendemskih sela, a danas nema razlike - i jedni i drugi češće koriste silos. Nema razlika u vlažnosti prostora za skladištenje. Nije bilo i nema razlika u učestalosti mljevenja pšenice kod kuće. U periodu nakon 2005. godine i jedni i drugi značajno manje melju pšenicu kod kuće. Isto tako nije bilo razlika u dobivanju brašna od vlastite pšenice. U periodu nakon 2005. godine i jedni i drugi najčešće ne dobivaju brašno od svoje pšenice. U periodu nakon 2005. godine i jedni i drugi značajno češće kupuju kruh u trgovini nego što ga sami peku.

Tablica 18. Razlike između endemskih sela i neendemskog sela

	Prije 1970. godine	Nakon 2005. godine	Opaska – usporedba dva perioda
Opažanje biljke AC u poljima	↑	↔	i jedni i drugi značajno manje
Opažanje sjemenki AC sa sjemenkama pšenice	↑	↔	i jedni i drugi značajno manje
Obrađivanje polja	↑	↔	i jedni i drugi značajno manje
Uzgajanje pšenice	↑	↔	i jedni i drugi značajno manje
Kvaliteta tla	↓	↔	više kvalitetnijeg tla u endemskom
Korištenje kombajna	↔	↔	i jedni i drugi značajno češće
Korištenje herbicida	↑	↔	i jedni i drugi značajno češće
Skladištenje pšenice u svom domaćinstvu	↔	↑	i jedni i drugi značajno manje
Skladištenje na tavanu	↑	↔	i jedni i drugi značajno manje
Skladištenje u hambaru	↓	↔	i jedni i drugi značajno manje
Odvoz u silos	↓	↑	i jedni i drugi značajno češće
Mljevenje pšenice kod kuće	↔	↔	i jedni i drugi značajno manje
Dobivanje brašna od vlastite pšenice u mlinu	↔	↓	i jedni i drugi značajno manje

AC = *Aristolochia clematitis*

4.3.2. Kronologija promjena u tehnologiji žetve, separacije i prerade pšenice u endemskom kraju tijekom XX. stoljeća

Dio opisa kronoloških promjena opisana je u uvodnom dijelu i u prilogu 7 tablica 14S. U tablici 19. sumarno su prikazane tehnološke promjene u žetvi, vršidbi, separaciji i preradi pšenice u endemskom kraju tijekom XX. stoljeća, s naglaskom na prijelaz od tradicionalnih prema mehaniziranim i tehnološki naprednijim sustavima. Dodatni prikaz informacija nalazi se u prilogu 7, tablica 15S.

Tablica 19. Kronologija promjena u tehnologiji žetve, separacije i prerade pšenice u endemskom kraju tijekom XX. stoljeća

Razdoblje	Tehnološka obilježja	Značenje promjene
Prva polovica XX. stoljeća	Prevladava dvofazna žetva pšenice. Nakon košnje i prosušivanja slijedi vršidba, najčešće uporabom vršalica.	Žetva i vršidba odvijaju se kao odvojene operacije, uz više manipulativnih faza i manju učinkovitost odvajanja zrna od primjesa.
Prva polovica XX. stoljeća	Separacija zrna provodi se ograničenim tehničkim mogućnostima tadašnjih vršalica i jednostavnijih sustava čišćenja.	Uklanjanje pljeve, slame i drugih primjesa bilo je manje učinkovito, osobito kod primjesa sličnih veličinom i oblikom zrnju pšenice.
1937.	Bebrinsko-banovački ketuški mlin moderniziran je ugradnjom turbine.	Predstavlja tehničko unapređenje lokalne prerade pšenice, ali i dalje unutar sustava manjih pogona ograničenoga kapaciteta.
1940.	Kutski ketuški mlin moderniziran je, a kasnije je u njega uveden i parni pogon.	Označava djelomičnu modernizaciju lokalnog mlinarstva prije potpune tranzicije prema suvremenijim mlinovima.
Od 1959.; osobito 1960-e i 1970-e godine	U tehnologiju uzgoja pšenice uvodi se primjena herbicida. Arhivski podatak iz 1959. godine potvrđuje tretiranje pšenice umjetnim gnojivom i herbicidima na području Bebrine.	Označava promjenu u agrotehnici uzgoja pšenice i suvremeniji pristup kontroli korovne vegetacije na obradivim površinama.
1960-e i 1970-e godine	Postupno se uvodi jednofazna kombajnska žetva.	U jednom procesu objedinjuju se žetva, vršidba, separacija i primarno čišćenje zrna, čime se povećava učinkovitost obrade.
Druga polovica XX. stoljeća	Razvijaju se napredniji sustavi sita, prosijavanja i uređaji za doradu zrna.	Poboljšava se separacija na temelju veličine, mase i aerodinamičkih svojstava čestica, uz veću čistoću sirovine prije skladištenja i mljevenja.
Druga polovica XX. stoljeća	Postupan prijelaz s vodenica i ketuških mlinova na tehnološki naprednije mlinove većega kapaciteta.	Prerada pšenice premješta se iz malih lokalnih pogona u centraliziranije i standardiziranje sustave.
Druga polovica XX. stoljeća	Uvode se suvremeniji sustavi skladištenja pšenice, uključujući silose. Počinje s radom silos velikog kapaciteta u Brodskom Stupniku.	Omogućeno je sigurnije skladištenje, skladištenje većih količina različitih proizvođača na jednom mjestu, bolja priprema sirovine i ujednačenija prerada prije mljevenja.
Druga polovica XX. stoljeća	Mljevenje prelazi s jednostavnijih oblika meljave na mehanizirane sustave s valjcima i prosijavanjem.	Omogućena je bolja kontrola prerade i ujednačenija kakvoća brašna.
Početak 1980-ih	Bebrinski mlin prestaje s radom.	Pokazuje postupno gašenje starijega sustava lokalne prerade pšenice.
1989.	Kutski mlin prestaje s radom.	Dodatno potvrđuje završetak razdoblja tradicionalnih lokalnih mlinova i prevlast suvremenijih sustava prerade.
1989.	Izgradnja modernog mlina u Brodskom Stupniku	Potvrđuje razvojne napretke u primjeni novih tehnologija u mlinarstvu ovoga područja.

5. RASPRAVA

Od početka istraživanja BEN-a od prije više od 65 godina postignuti su znatni pomaci u razumijevanju epidemiologije, etiologije, patogeneze i kliničke slike bolesti. Zahvaljujući mnogobrojnim rezultatima primarno istraživanja provedenih posljednjih dvadesetak godina u Hrvatskoj, danas znamo da BEN polagano nestaje i da će u idućim desetljećima iščeznuti, što je rezultat napretka tehnologije žetve, separiranja i pročišćavanja pšenice od svekolikog kukolja, pa tako i od sjemenki vučje stope. Prema našim ranijim istraživanjima i rezultatima ove doktorske disertacije jasno se razabire da u pojedinim prethodno definiranim kao endemskim selima u posljednjih petnaestak godina više nema novih bolesnika koji započinju liječenje dijalizom ili im je postavljena dijagnoza UUC-a. Zamjećuje se kako učestalost novih bolesnika pada s periferije endemskoga žarišta prema Slavanskom Kobašu, selu gdje je BEN prvi put i opisana u Hrvatskoj, vjerojatno kao odraz najveće izloženosti upravo u tom dijelu endemskoga žarišta. Krug se, čini se, zatvara i priča o BEN-u u Hrvatskoj završit će gdje je i počela. Unatoč padu broja novih bolesnika, i dalje možemo očekivati u sljedećim godinama pokojeg bolesnika s BEN-om u starijim dobnim skupinama koji će započeti liječenje nekim od oblika nadomjesnog bubrežnog liječenja. Osim toga, i dalje treba očekivati oboljele od UUC-a u endemskim područjima, što zahtijeva dodatni angažman i oprez lokalnih nefrologa, urologa i stručnjaka javnog zdravstva. Budući da je vrsta *Aristolochia clematitis* rasprostranjena diljem svijeta i da je uporaba ljekovitih biljnih pripravaka koji sadrže AA još uvijek rasprostranjena, unatoč zabrani FDA-a (Američke agencije za hranu i lijekove) zbog karcinogenosti i nefrotoksičnosti, rizik od izloženosti AA-u i dalje postoji te može biti uzrok još neprepoznatih nefropatija i UUC-a. Dodatno, u svakog bolesnika koji iz bilo kojeg seoskog kraja počne liječenje bubrežne funkcije nadomjesnim metodama, a uzrok KBB-a nije jasan i/ili bude postavljena dijagnoza UUC-a potrebno je isključiti sporadični oblik BEN-a. Balkanska nefropatija i posebno jatrogeni oblici AAN-a trebaju svima biti stalan podsjetnik da moramo obrazovati naše bolesnike, a i sebe, o tome da sve što dolazi iz prirode ili se naziva prirodnim lijekom nije nužno dobro i korisno, ali isto tako da neki drugi prirodni pripravci koji i ne moraju nužno biti toksični mogu interakcijama utjecati na djelotvornost lijekova i tako poremetiti proces liječenja.

5.1. Glavno značenje dobivenih rezultata

Rezultati ove disertacije pokazuju da je pad prevalencije BEN-a u hrvatskom endemskom žarištu vremenski povezan sa značajnim promjenama u poljoprivrednoj proizvodnji i preradi pšenice, te da je taj pad praćen smanjenjem broja novih bolesnika koji započinju liječenje kroničnom hemodijalizom i broja bolesnika operiranih zbog UUC-a. U cjelini promatrano, dobiveni rezultati podupiru hipotezu da su promjene u agrotehnici, tehnologiji žetve, separacije, skladištenja i mljevenja pšenice dovele do smanjenja izloženosti AA-u i time bitno pridonijele postupnom nestajanju aktivnoga endemskog žarišta. Ovakav zaključak predstavlja logičan nastavak dugogodišnjih istraživanja etiologije BEN-a. U ranijim desetljećima bilo je razmatrano više mogućih uzročnika, uključujući teške metale, viruse, mikotoksine i nasljeđe, no suvremena istraživanja dovela su do prihvatanja AA-a kao glavnog etiološkog čimbenika BEN-a i pridruženih UUC-a (1,23,40,41, 66). U tom kontekstu ovaj rad ne potkrjepljuje samo ranije rezultate da je AA uzrok BEN-a, nego odgovora na dva važna, a ranije ne odgovorena pitanja: kako to da ubikvitarna biljka izaziva endemsku bolest, te zašto bolest u hrvatskome žarištu danas postupno nestaje i na koji je način došlo do prekida okolišnog puta izloženosti. Na koncu, pomoću modela došli smo do okvirne godine kada se može očekivati potpun nestanak bolesti. Upravo u tome leži temeljni doprinos disertacije.

Za razliku od ranijih istraživanja koja su ponajprije bila usmjerena na dokazivanje etiološke uloge AA-a, ova disertacija sintetizira epidemiološke, kliničke, ekološke i agronomsko-tehnološke podatke. Takav multidisciplinarni pristup omogućio je ne samo opis pada učestalosti bolesti, nego i njegovo sadržajno objašnjenje. Na temelju dobivenih nalaza može se zaključiti da pad prevalencije BEN-a nije posljedica slučajne epidemiološke oscilacije, nego odraz trajne promjene okolišnih i tehnoloških uvjeta koji su nekada omogućavali kroničnu ingestiju fitotoksina.

5.2. Pad prevalencije Balkanske nefropatije i epidemiološko značenje

Analiza podataka iz perlustracija provedenih od 1958. do 1990. godine, zajedno s rezultatima istraživanja u razdoblju od 2003. do 2022. godine, pokazuje jasan i

konzistentan pad prevalencije BEN-a u svim endemskim selima hrvatskoga žarišta. Već sam taj nalaz ima veliko epidemiološko značenje jer pokazuje da se ne radi o izoliranoj promjeni u jednom dijelu žarišta, nego o općem silaznom trendu u cijelom prostoru koji je desetljećima bio klasično endemsko područje bolesti. Posebnu važnost ima opažanje da je selo Dubočac prvo selo bez registrirane oboljele osobe. U epidemiološkom smislu takav nalaz je jači od samog prosječnog pada prevalencije, jer pokazuje da je u barem jednom nekada endemskom selu bolest praktično nestala. To se ne može objasniti samo slučajnim osciliranjem broja bolesnika, osobito kada se promatra zajedno s padom u drugim selima i padom terminalnih ishoda bolesti. Upravo zato Dubočac može poslužiti kao svojevrsni model gašenja aktivnog dijela žarišta. Pad prevalencije u našem žarištu u skladu je s izvještajima iz Bugarske i Srbije [9, 14, 18, 19, 20, 21].

Važno je naglasiti i da pad prevalencije nije nastupio neposredno nakon tehnoloških promjena, nego 20 do 30 godina nakon melioracijskih zahvata, komasacije, uvođenja kombajna i modernih mlinova. Taj vremenski slijed posve se uklapa u prirodu BEN-a. Budući da je riječ o kroničnoj tubulointersticijskoj nefropatiji s dugim latentnim razdobljem i sporim napredovanjem, očekivano je da će se smanjenje izloženosti najprije odraziti na broj novih subkliničkih i kliničkih slučajeva, a tek nakon duljeg razdoblja na ukupnu prevalenciju bolesti u populaciji. Da je pad prevalencije nastupio odmah nakon tehnoloških promjena, to bi zapravo oslabilo, a ne ojačalo, argument o uzročnoj vezi. U tom smislu vremenski odmak između promjene okoliša i promjene prevalencije treba promatrati kao snažan argument za biološku vjerojatnost dobivenog objašnjenja. Bolest je očito bila posljedica dugogodišnje kumulativne izloženosti malim količinama AA-a, a ne akutne ili kratkotrajne ekspozicije. To također dobro objašnjava zašto BEN nije bila prisutna u djece i zašto se klinička slika razvijala tek nakon dugotrajnog boravka i života u endemskim selima.

5.3. Značenje pada terminalnih ishoda: hemodijaliza i urotelni karcinomi

Najjači dokaz da hrvatsko endemsko žarište više nije aktivno proizlazi iz analize terminalnih ishoda bolesti. U podacima iz arhive Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskome Brodu zabilježen je jasan pad udjela bolesnika s BEN-om među osobama

koje započinju liječenje kroničnom hemodijalizom: s 37,9 % - 1992. godine na 13,7 % - 2017. godine i 4,1 % - 2022. godine. Od 2022. godine niti jedna osoba iz endemskog kraja nije počela liječenje kroničnom hemodijalizom. Osim pada broja, bolesnici s BEN-om koji posljednjih godina započinju liječenje dijalizom značajno su stariji, što dodatno podupire zaključak da se više ne radi o aktivnom stvaranju novih slučajeva u mlađim i srednjim dobnim skupinama, nego o kasnim ishodima ranije stečene bolesti. Do istih opažanja došli su kolege iz Srbije [21].

Usporedno s time opažen je i pad broja bolesnika iz endemskog žarišta koji su operirani zbog UUC-a. Ti rezultati u skladu su s rezultatima iz Srbije [18, 85]. Posebno je važno da u rubnim selima endemskoga žarišta u razdoblju od 2005. do 2022. godine više nije bilo novih bolesnika ni među onima koji započinju kroničnu hemodijalizu ni među onima operiranim zbog UUC-a karakterističnog za BEN. Prostorni raspored tih terminalnih ishoda iznimno je informativan: rubni dijelovi žarišta prvi su izgubili obilježja aktivne endemije, dok se u središnjim dijelovima još uvijek vide zaostali, rezidualni ishodi ranije izloženosti. U selima Pričac, Lužani, Malino, Slobodnica i Dubočac u zadnjih deset godina nije bilo novih bolesnika liječenih kroničnom dijalizom ili operiranih zbog UUC-a što pokriplepljuje podatak dobiven u terenskim istraživanjima da u selu Dubočac nije dijagnosticiran niti jedan bolesnik s BEN-om.

Pad terminalnih ishoda također nastupa kasnije od pada prevalencije, s dodatnim odmakom od približno 10 do 15 godina. I taj je nalaz vrlo uvjerljiv. Nakon što prestane stvaranje novih slučajeva i počne pad prevalencije, potrebno je dodatno vrijeme da se smanji i broj bolesnika koji dosežu terminalni stadij KBB-a ili broj bolesnika razvijaju UUC. Dobiveni vremenski slijed stoga vrlo dobro odgovara poznatoj kliničkoj dinamici BEN-a: najprije dolazi do smanjene ekspozicije, zatim do pada novih i subkliničkih slučajeva, potom do pada prevalencije, a tek nakon toga do pada terminalnih bubrežnih ishoda i pridruženih UUC-a.

Upravo zato pad terminalnih ishoda predstavlja najjaču potvrdu da se ne radi samo o promjeni dijagnostičkog praga, već o stvarnom gašenju etiološkog procesa u populaciji. Epidemiološki gledano, kada prestaju nastajati novi slučajevi završnih stadija bolesti, tada se može zaključiti da žarište više nije aktivno u klasičnom smislu.

Na temelju vremenskog trenda prevalencije BEN-a u endemskim selima te godišnjeg broja novih bolesnika s BEN-om koji započinju liječenje kroničnom hemodijalizom i bolesnika operiranih zbog UUC-a izrađen je model praktičnog iščezavanja bolesti. Model terminalnih ishoda, temeljen na godišnjem zbroju novih BEN dijaliziranih i operiranih UCC BEN bolesnika, pokazuje da su novi terminalni oblici BEN-a postali praktično iznimno rijetki već oko 2017. godine. Nasuprot tomu, model prevalencije bolesti u populaciji pokazuje sporiji silazni trend i upućuje da bi se praktično iščezavanje BEN-a u hrvatskom endemskom žarištu moglo očekivati tijekom 2040-ih godina. Ovakav vremenski slijed u skladu je s dugim prirodnim tijekom bolesti i zaostajanjem ranije nastalih slučajeva u prevalenciji.

Prevalencija će se postupnije gasiti od terminalnih stadija bolesti zbog prisutnosti osoba u kojih je BEN počela prije više godina, ali te osobe bilo zbog konzumirane manje kumulativne doze bilo zbog povoljnijeg genskog spleta, imaju blaži oblik i sporiji tijek bolesti i oni vjerojatno i neće doživjeti terminalni stadij KBB-a i potrebu za liječenjem dijalizom i/ili neće razviti UUC.

5.4. Zašto drugi čimbenici rizika za kroničnu bubrežnu bolest ne mogu objasniti pad prevalencije Balkanske nefropatije

Važan dio interpretacije odnosi se na pitanje mogu li drugi čimbenici rizika za KBB objasniti opaženi pad BEN-a. Rezultati ovoga rada na to pitanje odgovaraju negativno. Usporedba stanovnika endemskih i neendemskih sela nije pokazala razlike u prevalenciji AH-a, šećerne bolesti, pretilosti ni u vrijednostima eGFR-a i ACR-a. Nema razlike niti u prevalenciji KBB-a što je sukladno s našim ranijim rezultatima [80]. Drugim riječima, endemska sela danas nemaju povoljniji opći nefrološki profil od neendemskih sela. Vrijednosti alfa1CR-a, ranog biljega tubularnog oštećenja i jednoga od dijagnostičkih kriterija za BEN, više su u stanovnika neendemskih sela. Taj nalaz je posebno zanimljiv jer upućuje na to da u endemskom području danas više nema ranog tubularnog oštećenja karakterističnog za aktivnu izloženost AA-u. Da je BEN još uvijek aktivna u istoj mjeri kao u prošlosti dobili bismo upravo suprotno. Ti rezultati u skladu su s našim ranije objavljenim

rezultatima na imigrantima koji su se iz neendemskih dijelova Bosne doselili u hrvatsko područje BEN-a [23].

Ovi su rezultati važni i metodološki. Da su u endemskim selima istodobno bile niže prevalencije AH-a, šećerne bolesti i pretilosti, dio opaženoga pada bolesti mogao bi se pripisati općem poboljšanju zdravstvenog profila populacije. Budući da takvih razlika nema, a neke su metaboličke vrijednosti u neendemskom području čak nepovoljnije, zaključak da je pad KBB-a u sklopu BEN-a posljedica smanjene izloženosti specifičnom okolišnom čimbeniku postaje znatno jači. Prevalencija KBB-a u sklopu BEN-a se, dakle, u današnjim uvjetima ne smanjuje zato što je populacija „zdravija” u općem smislu, nego zato što više nije izložena onome što je bolest povijesno uzrokovalo.

5.5. Ekologija *Aristolochiae clematitidis* i pitanje zašto ubikvitarna biljka dovodi do endemske bolesti

Prema rezultatima dobivenim u ovome doktorskom rad vrsta *Aristolochia clematitidis* općenito ima vrlo široku klimatsku nišu te da izbjegava samo najkserotermnija mediteranska područja i područja na sjeveru Europe s hemiborealnom i borealnom klimom [68]. To je pomalo neobično s obzirom da je vrsta izvorno rasprostranjena u toplijim područjima južno od Alpa, što pokazuje njezinu sposobnost prilagodbe vrlo različitim klimatskim uvjetima. Na ovom širokom geografskom području pojavljuje se u nizu različitih staništa – od močvara, travnjaka, ritskih i mezofilnih šuma do obradivih površina – što je u skladu s postojećim literaturnim podacima [95, 110]. Bez obzira na općenito široku nišu, postoje razlike u širini ekološke niše duž pojedinih okolišnih gradijenata. Uspoređujući sve analizirane gradijente, vrsta pokazuje najširu toleranciju duž gradijenta vlažnosti tla i dostupnosti hranjivih tvari, dok je na drugim gradijentima prisutna u užem rasponu vrijednosti. U skladu s teorijskim modelima, očekivano je da širina niše varira duž različitih okolišnih gradijenata - neke vrste mogu biti specijalisti u jednom, a generalisti u drugom kontekstu. Promjena u realiziranoj ekološkoj niši vrste *Aristolochia clematitidis* ovisno o udaljenosti od geografskog središta areala potvrđuje obrasce predviđene hipotezom „centar–periferija” [208]. Iako se ranije pretpostavljalo da su vrste na rubovima areala uvijek ekološki specijaliziranije, novije studije Diekmanna i

Lawesson, te Wasofa i drugih ukazuju na veću složenost tog obrasca, što se potvrđuje i u ovom istraživanju [114, 117]. Geografska, ekološka i povijesna centralnost / marginalnost ne moraju se poklapati [209, 210]. Specijalizacija rubnih populacija vjerojatno je posljedica nedavne, antropogeno inducirane ekspanzije vrste iz matičnog područja, uz nedostatak potpune prilagodbe novim, često znatno različitim klimatskim uvjetima. Sličan obrazac specijalizacije i promjene niše kod rubnih populacija zabilježili su i Šilc i drugi autori za druge vrste korova duž sjever-jug gradijenata [211].

Razlike u širini niše između središta i ruba areala moguće je objasniti trima međusobno povezanim komponentama koje čine realiziranu nišu: (i) temeljnom nišom, (ii) dostupnošću staništa i (iii) biotskim interakcijama [173]. *U regijama s visokom gama raznolikošću, poput Balkana, vrsta pokazuje širu realiziranu nišu*, što nije u skladu s klasičnom pretpostavkom da veća konkurencija vodi do užih niša [212] ali se podudara s rezultatima Mantheya i suradnika [213]. Specijalizacija vrste na stabilnija šumska staništa u rubnim područjima potvrđuje da je širina niše ovisna i o tipu staništa, bez obzira na to što su antropogena staništa dostupna u svim dijelovima areala [177, 214, 215]. U srednjem vijeku širenje vrste pod povoljnim klimatskim uvjetima i razvojem poljoprivrede omogućilo joj je prelazak iz prirodnih zajednica u ruderalne, proces koji može poslužiti kao model za buduće odgovore vrste na klimatske promjene [211, 214, 215].

Naši rezultati o prisutnosti biljke *Aristolochia clematitis* na istraživanim poljima endemskog i neendemskih područja Hrvatske pokazuju varijabilnost u pojavnosti ove korovske biljke na različitim istraživanim područjima te njenom *istaknutom prisutnosti na endemskom području* [68]. Đaković i suradnici [216] nisu uočili prisutnost vrste *Aristolochie clematitis* na istraživanoj poljoprivrednoj površini u Vukovarsko-srijemskoj županiji što potvrđuju i rezultati Kolaka i suradnici [217] do kojih su došli prilikom istraživanja florističkog sastava korova na oranicama te na njihovim rubnim zonama i pripadajućim kanalima. To se podudara s prvim Ivićevim zapažanjima da biljka *Aristolochia clematitis* ne raste na plodnim ravnicama Vojvodine, ali je značajno prisutna na jugu Srbije oko Niša [55].

U svom radu Storkey i suradnici analiziraju kako intenzifikacija poljoprivrede i promjene u korištenju zemljišta utječu na raznolikost europske oranične flore [218]. Autori su utvrdili da je povećana primjena herbicida, upotreba visokoprinosnih kultivara i smanjenje

tradicionalnih sustava obrade tla dovelo do značajnog smanjenja florističke raznolikosti i gubitka brojnih autohtonih korovskih vrsta koje su bile karakteristične za tradicionalnu poljoprivredu. Ovi rezultati potvrđuju da modernizacija i uniformizacija agronomskih praksi imaju izravan utjecaj na bioraznolikost agroekosustava. Fried i suradnici istražuju smanjenje brojnosti i raznolikosti korovske flore u oraničnim područjima sjeverne Francuske, s posebnim naglaskom na rubove polja kao potencijalna utočišta ("refugia") za očuvanje korovskih vrsta [219]. Autori su analizirali floristički sastav i distribuciju korova u intenzivno obrađivanim agroekosustavima te utvrdili da su intenzifikacija poljoprivredne proizvodnje i povećana uporaba herbicida doveli do značajnog smanjenja brojnosti tipičnih poljskih korova. Istraživanje pokazuje da rubni dijelovi usjeva i neobrađene trake mogu služiti kao važna mikrostaništa za očuvanje bioraznolikosti, osobito autohtonih i rijetkih korovskih vrsta koje su nestale iz unutrašnjosti oraničnih površina. I u ovom istraživanju došli smo do podatka da je prisutnost biljke *Aristolochia clematitis* smanjena i u endemskom i neendemskom području u odnos na period prije 1970. godine što je povezano s povećanom uporabom herbicida i općenito unaprijeđenjem poljoprivredne tehnologije. Rezultati istraživanja također potvrđuju učinke rubova polja koji su i u hrvatskom endemskom području imali ulogu u očuvanju tradicionalne biljne raznolikosti, kojoj zasigurno pripada i biljka *Aristolochia clematitis* unatoč svim tehnološkim promjenama i unaprijeđenjima u poljoprivrednoj proizvodnji.

Jedno od najintranigantnijih pitanja u istraživanju BEN-a oduvijek je bilo **kako to da ubikvitarna biljka poput *Aristolochia clematitis* može dovesti do geografski ograničene, endemske bolesti**. Rezultati ovoga doktorskog rada tom pitanju daju važno i uvjerljivo objašnjenje. Pokazano je da je *Aristolochia clematitis* vrsta široke ekološke amplitude, prisutna u vrlo različitim klimatskim i stanišnim uvjetima, u velikom broju tipova staništa i vegetacijskih razreda. Već to samo po sebi ukazuje da prisutnost biljke nije dovoljna da bi nastala endemska bolest. Ključno je, međutim to što se realizirana ekološka niša vrste mijenja unutar areala. Vrijednosti ESI-a pokazuju da se u rubnim dijelovima areala biljka ponaša kao ekološki specijalist i češće je vezana uz šumska i stabilnija staništa, dok se u središnjim dijelovima, gdje se prostorno preklapa s područjima povijesne pojavnosti BEN-a, ponaša kao generalist i češće nastanjuje antropogena

staništa, osobito oranice, vrtove i ruderalne zajednice. To znači da biljka nije epidemiološki relevantna svugdje gdje postoji, nego ondje gdje je snažno uključena u agroekosustav. U tom smislu endemičnost BEN-a može se razumjeti kao posljedica posebne kombinacije triju elemenata: (i) prisutnosti biljke, (ii) njezine učestalosti na obrađivanim površinama i (iii) tehnoloških uvjeta koji omogućuju ulazak njezinih sjemenki u žetvenu masu i brašno. Ako bilo koji od ta tri elementa izostane, bolest se ne održava kao endemija. Upravo zato je moguće da *Aristolochia clematitis* bude široko rasprostranjena, a da bolest ostane geografski ograničena. Također se na temelju dobivenih rezultata može pretpostaviti da očekivano globalno zatopljenje vjerojatno neće nepovoljno djelovati na vrstu *Aristolochia clematitis*, s obzirom na njezinu široku klimatsku nišu i izraženu ekološku plastičnost. Štoviše, u hladnijim dijelovima areala i na pogodnim antropogenim staništima zatopljenje bi moglo pogodovati njezinu održavanju ili širenju. Međutim, u najtoplijim i najsušnijim područjima u južnom dijelu areala, osobito ako zatopljenje bude praćeno jačom sušom, odgovor vrste mogao bi biti nepovoljniji. Stoga se može zaključiti da učinak klimatskih promjena na ovu vrstu vjerojatno neće biti jednoznačan, nego će ovisiti o lokalnoj kombinaciji temperature, vlažnosti i tipa staništa. No, neovisno ako klimatske promjene budu povoljne za biljku *Aristolochia clematitis*, druge dvije komponente, učestalost na obrađivanim površinama i ulazak njezinih sjemenki u žetvenu masu i brašno, bit će i dalje onemogućeno tehnološkim mogućnostima.

5.6. Povezivanje ekoloških rezultata s anketnim podacima o prisutnosti biljke nekada i danas

Analiza odgovora dobivenih strukturiranim upitnikom provedenim među stanovnicima endemskih i neendemskih sela dodatno potvrđuju ekološku interpretaciju. Stanovnici endemskih sela značajno su češće navodili da su u periodu prije 1970. godine na svojim poljima viđali vučju stopu i njezine sjemenke pomiješane sa sjemenkama pšenice nego stanovnici neendemskih sela. Danas tih razlika više nema, a u oba područja i biljka i sjemenke opažaju se znatno rjeđe nego prije. Ovaj rezultat je važan iz više razloga. Prvo, podupire tezu da je biljna vrsta u prošlosti doista bila izraženije prisutna u poljoprivrednom prostoru endemskog područja što je ponovo u skladu s davnim Ivićevim opažanjem [55].

Drugo, pokazuje da je tijekom vremena došlo do smanjenja njezine brojnosti i vidljivosti na mjestima epidemiološki najvažnijima za prijenos toksina. Treće, u kombinaciji s rezultatima o promjenama u agrotehnici i preradi pšenice, upućuje da je do pada izloženosti došlo i zbog manjeg kontakta stanovništva s biljkom u samom poljoprivrednom okolišu. Važno je naglasiti da bolest nije nestala zato što je biljka potpuno nestala. Naprotiv, rezultati pokazuju da je ona i dalje prisutna. Međutim, smanjenje brojnosti biljke na poljima, zajedno s promjenama u načinu obrade zemlje, žetve i prerade pšenice, bilo je potrebno da se epidemiološki relevantan put izloženosti bitno oslabi.

5.7. Prostorna raspodjela biljke unutar parcela i epidemiološko značenje

Terenska istraživanja prisutnosti *Aristolochia clematitis* na poljoprivrednim površinama dodatno pojašnjavaju mehanizam nekadašnje kontaminacije pšenice. Najveći broj čestica s biljkom evidentiran je u endemskom području, dok je najmanji u Međimurju. No posebno je važan nalaz da se u nekim neendemskim područjima, primjerice u Lonjskom polju, biljka pojavljuje na međama i unutar dva metra od međe, ali ne i u središnjem dijelu parcele. Jedino se na poljoprivrednim površinama endemskoga područja biljka nalazi i u središnjem dijelu parcele, a ne samo uz rubove. To znači da epidemiološki nije jednako važna svaka prisutnost biljke. Ako biljka raste samo uz rub parcele, vjerojatnost ulaska njezinih sjemenki u glavnu žetvenu masu manja je nego kada raste unutar središnjeg dijela proizvodne površine. Upravo taj nalaz dodatno razrješava na izglednu proturječnost između široke rasprostranjenosti biljke i prostorne ograničenosti bolesti. U endemskome području biljka nije bila samo češća, nego je njezin raspored bio povoljniji za ulazak sjemenki u požnjevenu pšenicu. Zbog toga prostorna ekologija unutar same čestice dobiva jednako veliko značenje kao i sama prisutnost biljke na razini regije. Ovaj rad pokazuje da se epidemiološko značenje *Aristolochia clematitis* ne može razumjeti bez uvažavanja njezina mikrolokalnog rasporeda u odnosu na poljoprivrednu proizvodnju.

5.8. Aristolohična kiselina u tlu i odsutnost u sjemenu pšenice

Nalaz da je AA prisutna u uzorcima tala gdje zajedno rastu pšenica i *Aristolochia clematitis*, kao i u dijelu uzoraka tala na kojima trenutno raste samo pšenica, pokazuje da

je fitotoksin prisutan u okolišu i izvan same biljne biomase koja je trenutačno vidljiva. Taj rezultat podudara se rezultatima drugih istraživača koji su detektirali AA u tlu u drugim endemskim i neendemskim područjima [221, 222]. Rezultat koji smo dobili u skladu je s anketnim podacima koji sugeriraju da je biljka nekoć bila prisutnija nego danas, te upućuje na mogućnost da današnji sastav tla odražava i nekadašnju rasprostranjenost vrste. Još je važniji nalaz da ni u jednom uzorku sjemena pšenice iz endemskoga i neendemskog područja nije potvrđena prisutnost AA-a. To je jedan od najvažnijih rezultata ovoga rada. On pokazuje da današnje pšenično zrno nije "unutarnje" kontaminirano s AA-om, nego da je povijesni put izloženosti vjerojatno bio mehaničko miješanje sjemenki vučje stope sa pšenicom tijekom žetve, vršidbe, dorade i mljevenja. Upravo taj rezultat daje vrlo snažnu potporu osnovnoj tezi disertacije. Ako AA nije u samom sjemenu pšenice, nego je kontaminacija ovisila o prisutnosti i zaostajanju sjemenki korovne biljke u žitu, tada tehnološke promjene u separaciji i preradi dobivaju središnje etiološko značenje. Time se jasno pokazuje da kontaminacija nije bila neizbježna posljedica koegzistencije biljke i pšenice u istom okolišu, nego posljedica povijesno specifičnih tehnoloških uvjeta proizvodnje hrane. Ovaj nalaz dodatno podupire i nedavni izvještaj Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu [223] prema kojem je većina analiziranih uzoraka žitarica bila ispod granice kvantifikacije za AA- I, dok za AA- II nije nađen nijedan uzorak iznad minimalne koncentracije tvari koja se može odrediti kvantitativno s prihvatljivom točnošću i dosljednošću (LOQ). To potvrđuje da današnja kontaminiranost žitarica više ne predstavlja okolišni rizik usporediv s onim koji je nekada održavao BEN kao endemsku bolest. Drugi autori su analizirali prisutnost AA-a u povrću koje raste na površinama blizu *Aristolochia clematitis*, ili na površinama gdje su u tlu dokazali prisutnost AA-a i pretpostavili da bi konzumacija tog povrća mogla biti dodatni put unosa AA-a i potencijalno način da osoba oboli od BEN-a [221, 222]. Koncentracije AA-a u takvom povrću su vjerojatno premale da bi konzumacijom tijekom prosječnog ljudskog životnog vijeka osoba unijela dovoljnu kumulativnu dozu za postizanje nefrotoksičnog i karcinogenog učinka. No, to je također i nova tema za, nazovimo to tako, zaključno istraživanje BEN-a.

5.9. Tehnološka tranzicija u žetvi, separaciji, skladištenju i mljevenju kao središnje objašnjenje

Tehnološki napredak je ključ za smanjenje prevalencije i incidencije BEN-a, te razlog očekivanoga potpunog nestanka bolesti i stoga zasluži poseban dio u raspravi. Povijesna analiza i podaci o promjenama u poljoprivrednoj praksi pokazuju da je tijekom XX. stoljeća u endemskome kraju došlo do temeljite tehnološke tranzicije. Tradicionalni sustav bio je obilježen dvofaznom žetvom, uporabom vršalica, ograničenom separacijom primjesa, skladištenjem pšenice u kućanstvima i preradom u manjim lokalnim mlinovima. U takvom je sustavu mogućnost mehaničkog zaostajanja sjemenki korovnih vrsta u žitu bila znatno veća nego danas. Suvremeni sustav donio je jednofaznu kombajnsku žetvu, naprednije ventilacijske i rešetne sustave, učinkovitije čišćenje i doradu zrna, uvođenje herbicida, suvremenije skladištenje u silosima i preradu u mlinovima većega kapaciteta. Paralelno s time, a prema analizama naše ankete, stanovnici danas rjeđe obrađuju polja, rjeđe uzgajaju pšenicu, rjeđe sami skladište i melju vlastitu pšenicu te najčešće više ne dobivaju brašno od vlastitoga zrna kada ga odvoze u mlin. Time je prekinut nekadašnji lokalni proizvodni lanac koji je omogućavao dugotrajnu i ponavljanu ingestiju malih količina AA-a kroz domaći kruh. Manje korištenja tzv. „tavanuše“ također pridonosi smanjenju ponovljene ingestije malih količina AA-a. Dodatnu potporu ovakvom tumačenju daju rezultati ovoga istraživanja gdje se probnim vršenjem pšenice kombajnom na rubnom dijelu parcele potvrdilo da sjemenke i svježi ostaci ploda *Aristolochia clematitis* mogu dospjeti među izvršeno sjeme pšenice. Ovakav nalaz upućuje da mogući put kontaminacije nije vezan uz samu prisutnost AA-a u zrnju pšenice, što smo i dokazali, nego vjerojatnije uz mehaničko miješanje sjemenki i drugih dijelova biljke sa žitnom masom tijekom žetve i vršidbe. Proveli smo i usporedbu sita suvremenog kombajna i vršalice koja se nekada koristila u dvofaznoj vršidbi, te smo utvrdili da kombajn unutar rešetnoga stana ima podesivo sito s mogućnošću regulacije otvora, dok su kod vršalice sita jednostavnije konstrukcije i s fiksnim otvorima. Taj je nalaz važan jer pokazuje da suvremeni kombajni omogućuju prilagodbu sustava separacije osobinama izvršenoga materijala, dok su stariji sustavi imali znatno ograničenije mogućnosti izdvajanja primjesa. U tom smislu opravdana je pretpostavka da je u ranijem razdoblju, kada su se koristile

vršalice i dvofazna vršidba, mogućnost zaostajanja sjemenki korovnih vrsta među pšenicom bila značajno veća nego u suvremenim uvjetima kombajnske žetve. Zajedničko skladištenje pšenice iz endemskih i neendemskih sela u istim silosima dovelo je manjeg korištenja „tavanuše“ s kojom su često bile pomiješane sjemenke vučje stope. Korištenje zajedničkog velikog mlina gdje ako slučajno koja sjemenka i promakne njen utjecaj na ukupnu kontaminiranost i potencijalni toksični potencijal kruha je neznajna zbog velikog dilucijskog efekta. To potvrđuje, kao što je već navedeno, analiza Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu koja zaključuje da su današnje koncentracije AA-e u žitu premale da se danas AA mogla dovesti u vezi s BEN-om [223]. Jednom riječju, tehnološke promjene nisu djelovale samo tako da su „smanjile broj korova“. One su bitno promijenile čitavu strukturu proizvodnje hrane. U tradicionalnome sustavu isti je čovjek ili ista obitelj uzgajala pšenicu, žela je, skladištila, mljela i pekla kruh. Svaka faza tog lanca nosila je mogućnost da sjemenke vučje stope ostanu pomiješane sa pšenicom. U suvremenom sustavu taj je lanac prekinut na više mjesta istodobno: biljka je manje prisutna na poljima, manje je vlastite proizvodnje, bolja je separacija tijekom žetve, centralizirano je skladištenje, tehnološki je unaprijeđeno mljevenje, a kruh se češće kupuje nego peče kod kuće. Upravo zato se čini da je tehnološka tranzicija najvažnije objašnjenje postupnog nestanka aktivnog žarišta.

5.10. Uloga melioracija, tla i prostornog korištenja zemljišta

Rezultati rada pokazuju da se pad BEN-a ne može odvojiti od širih promjena u okolišu, krajobrazu i korištenju zemljišta. U endemskom području polja su danas rjeđe plavljena, rjeđe močvarasta i češće bolje kvalitete za obradu nego u periodu prije 1970. godine. To ukazuje da su melioracijski zahvati i promjene gospodarenja zemljištem također igrali važnu ulogu u smanjenju uvjeta koji su nekada pogodovali rastu vučje stope i održavanju tradicionalne proizvodnje pšenice. Naša analiza prostorne raspodjele zemljišta pokazala je da su kućanstva s oboljelima češće imala veći broj čestica i više čestica u središnjem dijelu područja, na močvarnim i glejnim tlima, dok su kućanstva bez oboljelih češće imala čestice na aluvijalnim tlima. Ovaj nalaz dobro se uklapa u klasičnu mozaičnu distribuciju BEN-a i ranije opisan fenomen tzv. „crnih kuća“ u kojima bi BEN razorila čitavu porodicu

primarno zdravstveno, a kasnije posljedično i ekonomski. Nasuprot tome, upravo ovim rezultatom može se objasniti fenomen da u naizgled istom okolišu neke porodice desetljećima ostaju posve „pošteđene“ od BEN-a. Izloženost nije bila samo regionalna, nego i vrlo lokalno strukturirana, ovisno o tipu tla, položaju parcele i stupnju uključenosti pojedinog kućanstva u ratarsku proizvodnju. U to se uklapa i drugi fenomen, a to je tzv. sporadična BEN koju je prvi opisao profesor Nikolić iz Beograda, a mi smo potvrdili dokazom prisutnosti aristolaktamskih adukata i za AA tipične mutacije p53 onkosupresora (AT-TA tranzicije) u nekoliko bolesnika izvan definiranog hrvatskog i bosanskog endemskog žarišta [70, 71]. Prisutnost AA-a u tlu i polja neendemskih sela što smo uočili dodatna je potvrda da su u prošlosti sigurno postojali uvjeti za sporadičnu BEN, ali da i dalje treba biti oprezan u kliničkom radu i da je nužno pomišljati na tu dijagnozu zbog većeg rizika za UUC primarno kod transplantiranih bubrežnih bolesnika iz poljoprivrednih ruralnih krajeva [90]. Balkanska nefropatija, kao okolišni oblik AAN-a, mogla se razviti i u drugim područjima ako su bila ispunjena ranije navedena tri uvjeta. Vrlo vjerojatno je u prošlosti bio određen broj bolesnika iz drugih seoskih područja koji su ili počeli liječenje dijalizom ili su operirani zbog UUC-a pod dijagnozom KBB nepoznatog uzroka. Nitko nije pomišljao da bi AA u tim slučajevima mogla biti uzrok, te da nije riječ o KBB-u nepoznatog uzroka nego da se radi o BEN-u. Tome je sigurno značajno pridonijela ranija definicija BEN-a koja je kao *conditio sine qua non* među kriterijima sadržavala dugotrajni boravak u endemskome području [2, 77]. Konsenzus dokument i nova klasifikacija sadrži i sporadičnu BEN, a rezultati ovog istraživanja također ukazuju da još uvijek treba biti oprezan te da kod svih bolesnika iz bilo kojeg seoskog područja koji ili započinju liječenje dijalizom ili su operirani zbog UUC-a uzrok KBB-a nije jasan treba pomisliti na BEN, te uzeti temeljitu anamnezu i proširiti dijagnostičku obradu [76]. Koliko je to važno potvrđuju objavljeni rezultati našeg istraživanja o kliničkom tijeku bolesnika iz seoskih područja koji su nakon transplantacije razvili UUC [90]. Da je u tih bolesnika bila dijagnosticirana sporadična BEN, tj. da se razmišljalo izvan ranije krivo zadanih okvira, tim bolesnicima bi prije transplantacije bila napravljena binefrektomija nativnih bubrega i ti bolesnici ne bi umrli zbog UUC-a.

5.11. Što rezultati govore o prirodi Balkanske nefropatije u Hrvatskoj danas

Sinteza svih dobivenih rezultata upućuje na zaključak da hrvatsko endemsko žarište više nije aktivno u klasičnome epidemiološkom smislu. To ne znači da više nema pojedinačnih bolesnika, terminalnih ishoda ili pridruženih karcinoma, nego da današnja pojava takvih bolesnika više ne odražava aktivan i trajan unos vanjskoga etiološkog čimbenika istim intenzitetom kao u prošlosti. Danas BEN bolesnici predstavljaju rezidualni klinički ostatak ranije izloženosti, a ne čine novu generaciju oboljelih nastalu pod istim okolišnim uvjetima. Ova je interpretacija posebno važna jer omogućava da se BEN u Hrvatskoj danas razumije kao bolest koja se gasi, ali ne zato što je njezin uzročnik potpuno nestao iz okoliša, nego zato što više ne postoji isti put izloženosti. Time se rješava i drugo otvoreno pitanje kako bolest može nestajati iako biljka *Aristolochia clematitis* još uvijek postoji u endemskome području. Odgovor je da prisutnost biljke sama po sebi nije dovoljna ako su prekinuti mehanizmi koji su njezine sjemenke nekada dovodili do kruha i kronične ingestije aristolohične kiseline.

5.12. Ograničenja istraživanja

Pri tumačenju dobivenih rezultata valja uzeti u obzir nekoliko ograničenja. Dio podataka o ranijoj prisutnosti biljke, načinu obrade polja, skladištenju pšenice i proizvodnji kruha temelji se na anketnim odgovorima i prisjećanju ispitanika, pa se ne može isključiti mogućnost prisjećanje pogreške. No, to može utjecati na intenzitet i kvantitet pojedinog odgovora, ali ne može utjecati na opažene razlike između odgovora stanovnika endemskih i neendemskih sela. Dio povijesnih promjena rekonstruiran je iz arhivskog gradiva i literature, a ne iz kontinuiranog praćenja istih kućanstava kroz više desetljeća. Nismo mogli pratiti dinamiku pojedinog bolesnika ili porodice, ali smo mogli analizirati ukupne razlike u trendovima između stanovnika endemskih i neendemskih sela. Dio zaključaka temelji se na vremenskoj i prostornoj podudarnosti više trendova, a ne na izravnom individualnom longitudinalnom mjerenju izloženosti AA-u tijekom životnog vijeka.

Međutim, konzistentnost više nezavisnih skupina nalaza tj. interdisciplinarna podudarnosti najveća snaga ove disertacije. Pad prevalencije, pad terminalnih ishoda, odsutnost razlika

u općim čimbenicima rizika za KBB, rezultati o ekologiji vrste, promjene u prisutnosti biljke na poljima, nalazi AA-a u tlu, njezina odsutnost u sjemenu pšenice i dokumentirane tehnološke promjene u žetvi i preradi pšenice vode istom zaključku. U znanstvenome smislu, takva konvergencija nalaza ima veliko značenje i čini objašnjenje ponuđeno u ovom radu vrlo uvjerljivim.

5.13. Znanstveni doprinos rada

Znanstveni doprinos ove disertacije može se sagledati na nekoliko razina. Prvo, rad pruža integrirano objašnjenje pada prevalencije i incidencije BEN-a u hrvatskome žarištu, povezujući epidemiološke trendove s konkretnim promjenama u poljoprivrednoj proizvodnji i preradi hrane. Drugo, rezultati proširuju razumijevanje uloge *Aristolochia clematitis* pokazujući da za nastanak endemske bolesti nije dovoljna opća rasprostranjenost biljke, nego su presudni njezina brojnost, prostorni raspored i uključenost u agroekosustav. Treće, rad podupire model prema kojem je kontaminacija brašna povijesno nastajala mehaničkim miješanjem sjemenki vučje stope s pšenicom, a ne kontaminacijom samoga pšeničnog zrna.

U širem smislu ovaj rad pokazuje kako se jedna kronična okolišna bolest može povlačiti ne zbog medicinske intervencije usmjerene na sam uzrok, nego zbog promjena u načinu proizvodnje hrane, korištenju zemljišta i tehnološkim praksama. Time disertacija nadilazi uski okvir lokalne povijesti BEN-a i doprinosi općem razumijevanju interakcije okoliša, poljoprivrede i kronične bolesti u ljudskim populacijama.

5.14. Završna sinteza

Rezultati ove disertacije snažno podupiru tumačenje da je BEN u hrvatskom endemskom području okolišni oblik AAN-a, pri čemu je ključnu ulogu imao prehrambeni put unosa preko kontaminirane pšenice i brašna. Dokazali smo da sama prisutnost vrste *Aristolochia clematitis* nije dovoljna za pojavu bolesti, nego da je presudna kombinacija njezine prisutnosti na poljoprivrednim površinama, njezine brojnosti, prostornog rasporeda unutar parcela i tehnoloških mogućnosti žetve, separacije i prerade. Tehnološka unapređenja u proizvodnji i preradi pšenice, zajedno sa smanjenjem brojnosti biljke na obrađivanim

površinama, dovela su do prekida ili bitnog smanjenja izloženosti AA-u. Posljedično je došlo do pada prevalencije BEN-a, pada broja novih bolesnika koji dosežu terminalni stadij KBB-a i pada broja pridruženih UUC-a. U tom smislu, ova disertacija ne pokazuje samo što je glavni etiološki čimbenik bolesti, nego i na koji je način promjena poljoprivredno-tehnološkog sustava dovela do postupnog nestajanja aktivnoga endemskog žarišta u Hrvatskoj.

Implikacije provedenog istraživanja

Zanimljivo je da se geografska pojavnost BEN-a uvelike podudara s geografskim središtem rasprostranjenosti vrste *Aristolochia clematitis*. Iako naši rezultati pokazuju da brojnost ove vrste na plohama nije veća na Balkanu, važno je otkriće da se ovdje ona češće javlja u staništima nastalim djelovanjem čovjeka, osobito u vegetaciji oranica i povrtnjaka, kao i u antropogenoj zeljastoj vegetaciji na rubovima poljoprivrednih površina. Očito je da je takvo ekološko ponašanje omogućilo *Aristolochia clematitis* da dođe u kontakt s različitim usjevima, te se stoga bolest ovdje značajnije manifestirala.

Kroz povijest se razvojem poljoprivrednih tehnologija i intenziviranjem primjene herbicida bezkompromisno utjecalo na eliminaciju korovske vegetacije koja, pored neželjenog utjecaja na gubitak prinosa, ima i mnogobrojne koristi u agroekosustavu. Danas se sve više vodi brige o očuvanju bioraznolikosti i sprječavanju nestanka rijetkih i ugroženih korovnih vrsta koje su od velike važnosti kao hrana i sklonište mnogobrojnoj lokalnoj fauni. Također se kroz razne projekte nastoji osigurati zaštićene zone na rubovima polja kako bi očuvali ugrožene korove i održali hranidbeni lanac i živi svijet u agrofitocenoza. Pri tome je iznimno važno voditi računa o mogućnostima širenja otrovnih biljki kao npr. *Aristolochia clematitis* i njeno vraćanje na poljoprivredne površine te nepoželjan ulazak u hranidbeni lanac ljudi.

Sljedeća važna korist i primjenjivost dobivenih rezultata je u domeni zdravlja, javnog zdravstva i budućih planiranja zdravstvenih resursa. Očekivani pad i nestanak BEN-a, a kasnije i UUC-a odrazit će se u početku smanjenjem broja nefroloških bolesnika i bolesnika s UUC-om što će trebati uzeti u obzir prilikom prostornih i kadrovskih planiranja lokalne bolnice i drugih zdravstvenih ustanova. S druge strane podatak o povećanoj

učestalosti AH-a, pretilosti i šećerne bolesti kao posljedice kod lokalnog seoskog stanovništva sve češće prihvaćenih obrazaca loših životnih navika, značajno povećava ukupni kardio-reno-neuro-metabolički rizik što znači da će doći do porast broja bolesnika iz endemskih krajeva s tim pobolom. Mogli bismo reći da je taj fenomen, tj. epidemiološka tranzicija negativna nuspojava tehnološkog napretka jer je nakon poljoprivredno-tehnoloških promjena lokalno seosko stanovništvo postalo fizički značajno manje aktivno što je dovelo do veće učestalosti pretilosti, AH-a i u konačnici do povećanoga ukupnog kardio-reno-neuro-metaboličkog rizika. To je također tako važno za buduća planiranja, ali snažno ukazuje na potrebu intenzivnog i kontinuiranog rada na podizanju zdravstvene pismenosti stanovništva.

Prijedlozi za buduća istraživanja

1. Naši rezultati i rezultati drugih autora upućuju na to da se slični uvjeti pojavljuju na sjeveru Italije i jugu Ukrajine. Međutim, za razliku od balkanskih zemalja, u tim regijama nikada nije zabilježena veća učestalost KBB-a i/ili UUC-a. Bilo bi zanimljivo istražiti jesu li u tim područjima različiti postupci žetve i mljevenja onemogućili miješanje sjemenki *Aristolochia clematitis* sa sjemenkama pšenice. Također je moguće da ni u Italiji ni u Ukrajini, ali vjerojatno i u mnogim drugim poljoprivrednim regijama, nitko nije povezao KBB i UUC s izloženošću AA-om. No, prije toga svakako bi bilo zanimljivo i vrijedno napraviti slično istraživanje u nekome drugom endemskom žarištu na Balkanu, pogotovo što se prema izvještajima čini da nisu sva ta žarišta jednako aktivna.

2. Sljedeće važno istraživanje treba biti ono koje će odbaciti hipotezu da stanovnici endemskih, ali i drugih regija, zbog male količine AA-a u povrću mogu za vrijeme trajanja prosječnoga životnog vijeka unijeti dovoljnu kumulativnu dozu AA-a, a da bi ona mogla biti nefrotoksična i/ili karcinogena.

3. Konačno, s obzirom na epidemiološku tranziciju bolesti od toksične prema metaboličkoj kao posljedicu učestalo prisutnih loših životnih navika i veće prevalencije AH-a, pretilosti i šećerne bolesti važno će biti odrediti ukupan kardio-reno-neuro-metabolički rizik u populaciji endemskih sela i usporediti ga s istim rizikom u seoskoj populaciji neendemskih područja.

6. ZAKLJUČCI

1. U hrvatskom endemskom žarištu uočen je značajan pad prevalencije i incidencije Balkanske nefropatije, a model predikcije upućuje da bi se praktično iščezavanje bolesti moglo očekivati tijekom 2040-ih godina.

2. Faktori rizika za kroničnu bubrežnu bolest u endemskim selima nisu manje učestali nego u drugim seoskim područjima, pa se opaženi pad učestalosti kronične bubrežne bolesti ne može objasniti manjim ukupnim rizikom za kroničnu bubrežnu bolest, nego padom učestalosti Balkanske nefropatije, odnosno smanjenom izloženošću ekološkom etiološkom čimbeniku — aristolohičnoj kiselini.

3. Analizom ekološke niše utvrđeno je da se *Aristolochia clematitis* u endemskom području učestalo pojavljuje i na antropogeno oblikovanim staništima te da u središnjem dijelu areala pokazuje obilježja ekološkog generalista. Učestala prisutnost biljke na oranicama i drugim kultiviranim površinama predstavlja jedno od mogućih objašnjenja zbog čega je Balkanska nefropatija bila endemska upravo u tim područjima.

4. Usporedbom više seoskih područja u Hrvatskoj utvrđeno je da je *Aristolochia clematitis* najčešće prisutna na poljoprivrednim površinama endemskoga područja. Jedino je u endemskom području opažena i u središnjem dijelu oranica, što upućuje da je u razdoblju prije tehnološkog unapređenja uzgoja žitarica bila još izraženije prisutna unutar proizvodnih površina. Takav raspored biljke vjerojatno je povećavao mogućnost ponovnog zasijavanja njezinih sjemenki i pridonosio mozaičnoj distribuciji Balkanske nefropatije.

5. U razdoblju šezdesetih godina prošloga stoljeća stanovnici endemskoga područja češće su opažali sjemenke *Aristolochia clematitis* među sjemenkama pšenice nego stanovnici neendemskog područja, dok u prvom desetljeću ovoga stoljeća nema razlika između dviju seoskih populacija. Istodobno je u novijem razdoblju zabilježena znatno češća uporaba kombajna, što upućuje da je unapređenje poljoprivredne tehnologije i bolja

separacija smanjila mogućnost unosa aristolohične kiseline kontaminiranim kruhom te pridonijela padu prevalencije bolesti.

6. U prvome desetljeću ovoga stoljeća, u odnosu na razdoblje šezdesetih godina prošloga stoljeća, stanovnici endemskoga kraja znatno rjeđe opažaju biljku *Aristolochia clematitis* na svojim poljoprivrednim površinama. Taj se rezultat može povezati s poboljšanjem kvalitete tala, melioracijskim zahvatima i uporabom herbicida te dodatno podupire zaključak da su promjene u poljoprivrednim postupcima smanjile rizik unosa aristolohične kiseline hranom.

7. Aristolohična kiselina nije dokazana u sjemenkama pšenice, što upućuje da kruh nije bio kontaminiran zbog kontaminacije samoga zrna pšenice, nego zato što su se sjemenke biljke *Aristolochia clematitis* mljele zajedno sa pšenicom.

8. Analizom tla utvrđena je prisutnost aristolohične kiseline na površinama na kojima raste *Aristolochia clematitis*, a njezina koncentracija bila je povezana s brojnošću biljaka na pojedinoj poljoprivrednoj površini. Ovi nalazi uklapaju se u prostornu i mozaičnu distribuciju Balkanske nefropatije.

9. Kućanstva u kojima je bilo oboljelih od Balkanske nefropatije češće su posjedovala veći broj poljoprivrednih čestica i zemljišta na kojima *Aristolochia clematitis* bolje uspijeva. To je u skladu s podatkom da su oboljeli i njihova kućanstva češće opažali biljku na svojim poljima i njezine sjemenke među sjemenkama pšenice, što upućuje na veću vjerojatnost izloženosti aristolohičnoj kiselini te objašnjava mozaicizam bolesti unutar sela i pojavu tzv. „crnih kuća”.

10. U prvome desetljeću ovoga stoljeća, u odnosu na sedamdesete i šezdesete godine prošloga stoljeća, stanovnici endemskoga kraja znatno rjeđe sami skladište pšenicu i melju vlastito zрно, dok ga češće skladište i prerađuju u zajedničkim ili centraliziranim sustavima. Time je, uz tehnološko unapređenje žetve i separacije (primjer uporabe

kombajna s podesivim sitima unutar rešetnoga stana, za razliku od starijih vršalica s fiksnim otvorima) i korištenje velikih zajedničkih mlinova u kojima se prije mljevenja skladišti pšenicu iz endemskih i neendemskih područja (dilucijski efekt), dodatno smanjena vjerojatnost da eventualno prisutne sjemenke *Aristolochia clematitis* dospiju u brašno namijenjeno pojedinom kućanstvu, te ako aristolohična kiselina i jest prisutna u tom brašnu, onda je riječ o vrlo maloj koncentraciji koja ne može dovesti do postizanja kumulativne toksične doze tijekom prosječnog trajanja ljudskog života.

7. LITERATURA

1. Jelaković B, Dika Ž, Arlt VM i sur. Balkan endemic nephropathy and the causative role of aristolochic acid. *Semin Nephrol.* 2019;39:284–96.
2. World Health Organization. The “endemic nephropathy” of South-Eastern Europe. *Bull World Health Organ.* 1965;32:441–8.
3. Pichler O, Bobinac E, Miljuš B, Sindik A. O učestaloj pojavi bubrežnih oboljenja u okolini Slavenskog Broda. *Liječ Vjesn.* 1959;81:295–306.
4. Čeović S, Miletić Medved M. Epidemiological features of endemic nephropathy in focal area of Brodska Posavina, Croatia. U: Čvorišćec D, Čeović S, Stavljenić-Rukavina A, ur. *Endemic nephropathy in Croatia.* Zagreb: Academia Croatica Scientiarum Medicarum; 1996. str. 7–23.
5. Radonić M, Radošević Z, Zupanić V. Endemic nephropathy in Yugoslavia. U: Mostofi F, Smith D, ur. *The kidney.* Baltimore: Williams and Wilkins Co; 1966. str. 503–22.
6. Čeović S, Hrabar A, Radonić M. Proširenost, učestalost i druge epidemiološke značajke balkanske endemske nefropatije u Brodskoj posavini. *Anal. Zavoda Jugoslav. Akad.* 1985;4:373–85.
7. Trnačević S, Halilbašić A, Imamović G, Mešić E. Balkan endemic nephropathy in Bosnia and Hercegovina. *Facta Univ Ser Med Biol.* 2002;9(1):31–3.
8. Danilovic V, Djurisic M, Mokranjac M, Stojimirovic B, Zivojinovic J, Stojakovic P. Familial kidney diseases in the village Sopic caused by chronic lead poisoning. *Srp Arh Celok Lek.* 1957;85(10):1115–25.
9. Strahinjić S, Stefanović V, Vukušić Z. Endemic Balkan nephropathy rate of frequency and distribution around the river Južna Morava and lower reaches of its tributaries. U: Strahinjić S, Stefanović V, ur. *Current Research in Endemic Balkan Nephropathy: Proceedings of the 5th Symposium on Endemic Balkan Nephropathy.* Niš: University Press; 1983. str. 293–301.
10. Bruckner I, Zosin C, Lazarescu R, et al. A clinical study of nephropathy of an endemic character in the People's Republic of Rumania. U: *Proceedings of the International*

Symposium on Endemic Nephropathy; Sofia, 1963. Sofia: Academy of Sciences Press; 1965. p. 25–35.

11. Tatu C, Orem W, Finkelman R, Feder G. The etiology of Balkan endemic nephropathy: still more questions than answers. *Environ Health Perspect.* 1998;106:689–700.
12. Čeović S, Hrabar A, Radonić M. An etiological approach to Balkan endemic nephropathy based on the investigation of two genetically different populations. *Nephron.* 1985;40(2):175–9.
13. Miletić-Medved M, Domijan AM, Peraica M. Recent data on endemic nephropathy and related urothelial tumors in Croatia. *Wien Klin Wochenschr.* 2005;117(17):604–9.
14. Petronić VJ, Bukurov NS, Djokić MR i sur. Balkan endemic nephropathy and papillary transitional cell tumors of the renal pelvis and ureters. *Kidney Int Suppl.* 1991;34:S77–9.
15. Čeović S, Hrabar A, Šarić M. Epidemiology of Balkan endemic nephropathy. *Food Chem Toxicol.* 1992;30(3):183–8.
16. Čeović S, Pleština R, Miletić-Medved M i sur. Epidemiological aspects of Balkan endemic nephropathy in a typical focus in Yugoslavia. U: Castegnaro M, Pleština R, Dirheimer G i sur., ur. *Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours.* Lyon: International Agency for Research on Cancer; 1991. str. 5–10. IARC Scientific Publications No. 115.
17. Cvitković A, Vuković-Lela I, Edwards K i sur. Could disappearance of endemic Balkan nephropathy be expected in forthcoming decades? *Kidney Blood Press Res.* 2012;35(3):147–52.
18. Janković S, Bukvić D, Marinković J i sur. 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.
19. Čukuranović R, Petrović B, Čukuranović Z, Stefanović V. Balkan endemic nephropathy: a decreasing incidence of the disease. *Pathol Biol.* 2000;48:558–61.
20. Dimitrov P, Simeonov V, Ganey V, Karmaus W. Is the incidence of Balkan endemic nephropathy decreasing? *Pathol Biol.* 2002;50(1):38–41.

21. Bukvić D, Janković S, Marić I, Štosović M, Arsenović A, Djukanović L. Today Balkan endemic nephropathy is a disease of the elderly with a good prognosis. *Clin Nephrol.* 2009;72(2):105–13.
22. Marković N, Ignjatović I, Čukuranović R i sur. 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(1):26–9.
23. Jelaković B, Vuković Lela I, Karanović S i sur. 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;10:215–23.
24. Kos J. Biljezi oštećenja proksimalnoga tubula u endemskoj nefropatiji [disertacija]. Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2020. str. 4–5.
25. Voice TC, Long DT, Radanović Z i sur. Critical evaluation of environmental exposure agents suspected in the etiology of Balkan endemic nephropathy. *Int J Occup Environ Health.* 2006;12:369–76.
26. Aleraj B. A study of the viral etiology of endemic nephropathy. U: Čvorišćec D, Čeović S, Stavljenić-Rukavina A, ur. *Endemic nephropathy in Croatia.* Zagreb: Academia Croatica Scientiarum Medicarum; 1996. str. 73–5.
27. Apostolov K, Spasić P, Bojanić N. Evidence of a viral aetiology in endemic Balkan nephropathy. *Lancet.* 1975;2(7948):1271–3.
28. Danilović V. Chronic nephritis due to ingestion of lead-contaminated flour. *Br Med J.* 1958;1(5061):27–8.
29. Huff JE. Carcinogenicity of ochratoxin A in experimental animals. *IARC Sci Publ.* 1991;115:229–44.
30. Krogh P. Mycotoxic porcine nephropathy: a possible model for Balkan endemic nephropathy. U: Puhlev A, ur. *Endemic nephropathy.* Sofia: Publishing House of the Bulgarian Academy of Science; 1974. str. 266–70.
31. Pfohl-Leszkowicz A, Petkova-Bocharova 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 Addit Contam.* 2002;19(3):282–302.

32. Peraica M, Flajs D, Domijan AM, Ivić D, Cvjetković B. Ochratoxin A contamination of food from Croatia. *Toxins (Basel)*. 2010;2(8):2098–105.
33. Domijan AM, Peraica M, Jurjević Z, Ivić D, Cvjetković B. Fumonisin B1, fumonisin B2, zearalenone and ochratoxin A contamination of maize in Croatia. *Food Addit Contam*. 2005;22(7):677–80.
34. Radić B, Fuchs R, Peraica M, Lucić A. Ochratoxin A in human sera in the area with endemic nephropathy in Croatia. *Toxicol Lett*. 1997;91(2):105–9.
35. European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to ochratoxin A in food. *EFSA J*. 2006;365:1–56.
36. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Risk assessment of ochratoxin A in food. *EFSA J*. 2020;18(5):6113.
37. Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Ad hoc stručno tijelo Centra za sigurnost hrane. Znanstveno mišljenje o izloženosti djece i adolescenata Republike Hrvatske okratoksinu A (OTA) iz hrane [Internet]. Osijek: Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu; 2025 [pristupljeno 07.04.2026.]. Dostupno na: <https://www.hapih.hr/wp-content/uploads/2026/01/Znanstveno-misljenje-o-izlozenosti-djece-i-adolescenata-Republike-Hrvatske-okratoksinu-A-OTA-iz-hrane.pdf>.
38. Grollman A, Scarborough J, Jelaković B. Aristolochic acid nephropathy: an environmental and iatrogenic disease. *Adv Mol Toxicol*. 2009;3:211–27.
39. Grollman A, Jelaković B. Role of environmental toxins in endemic Balkan nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18:2817–23.
40. Grollman A, Shibutani S, Moriya M i sur. Aristolochic acid and the etiology of endemic Balkan nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:12129–34.
41. Jelaković B, Karanović S, Vuković-Lela I i sur. Aristolactam-DNA adducts are a biomarker of environmental exposure to aristolochic acid. *Kidney Int*. 2012;81:559–67.
42. Dickman KG, Sweet DH, Bonala R, Ray T, Wu A. Physiological and molecular characterization of aristolochic acid transport by the kidney. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011;338:588–97.

43. Stiborová M, Frei E, Arlt VM, Schmeiser HH. Metabolic activation of carcinogenic aristolochic acid, a risk factor for Balkan endemic nephropathy. *Mutat Res.* 2008;658(1–2):55–67.
44. Lebeau C, Debelles FD, Arlt VM i sur. Early proximal tubule injury in experimental aristolochic acid nephropathy: functional and histological studies. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20(11):2321–32.
45. Anger EE, Yu F, Li J. Aristolochic acid-induced nephrotoxicity: molecular mechanisms and potential protective approaches. *Int J Mol Sci.* 2020;21(3):1157.
46. Dumić A. Trovanje konja vučjom stopom (*Aristolochia clematitis*). Beograd: Vojnotehnički glasnik; 1954;3–45.
47. Martinčić M. Toxische Einwirkungen der *Aristolochia clematitis* auf die Niere des Pferdes. *Vet Arh.* 1957;27:51–9.
48. Lapčević E, Penezić B, Kozić LJ, Kosovac A. Alimentarna intoksikacija konja vučjom jabukom. *Veterinarski glasnik.* 1952, broj 9.-10
49. Dawson WR. Birthwort: a study of the progress of medical botany through twenty-two centuries. *Pharm J Pharm.* 1927;396:427–30.
50. Watt G. A dictionary of the economic products of India. Vol. 1. Calcutta: Superintendent of Government Printing; 1885. str. 331–6.
51. Zhong Hua Ben Cao. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press; 1999, str. 460–509.
52. Cosyns JP, Jadoul M, Squifflet JP, De Plaen JF, Ferluga D, van Ypersele de Strihou C. Chinese herb nephropathy: a clue to Balkan endemic nephropathy? *Kidney Int.* 1994;45:1680–8.
53. Nortier JL, Martinez MC, Schmeiser HH i sur. Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb *Aristolochia fangchi*. *N Engl J Med.* 2000;342:1686–92.
54. Arlt VM, Stiborová M, vom Brocke J i sur. Aristolochic acid mutagenesis: molecular clues to the aetiology of Balkan endemic nephropathy-associated urothelial cancer. *Carcinogenesis.* 2007;28(11):2253–61.
55. Ivić M. Problem etiologije endemske nefropatije. *Liječ Vjesn.* 1969;91:1273–81.
56. Ivić M, Lovrić B. Karcinogeni učinak aristolohije. *Acta Med.* 1967;5:1–3.

57. Vanherweghem JL, Depierreux M, Tielemans C i sur. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs. *Lancet*. 1993;341:387–91.
58. Schmeiser HH, Kucab JE, Arlt VM i sur. Evidence of exposure to aristolochic acid in patients with urothelial cancer from a Balkan endemic nephropathy region of Romania. *Environ Mol Mutagen*. 2012;53(8):636–41.
59. Hranjec T, Kovač A, Kos J i sur. Endemic nephropathy: the case for chronic poisoning by Aristolochia. *Croat Med J*. 2005;46(1):116–25.
60. Muniz Martinez MC, Nortier J, Vereerstraeten P, Vanherweghem JL. Progression rate of Chinese herb nephropathy: impact of Aristolochia fangchi ingested dose. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17:408–12.
61. Ivković V, Karanović S, Fištrek Prlić M i sur. Is herbal tea consumption a factor in endemic nephropathy? *Eur J Epidemiol*. 2014;29(3):221–4.
62. Gluhovschi G, Margineanu F, Kaycsa A i sur. Therapeutic remedies based on Aristolochia clematitis in the main foci of Balkan endemic nephropathy in Romania. *Nephron Clin Pract*. 2010;116:c36–46.
63. Gruia A, Oprean C, Ivan A i sur. Balkan endemic nephropathy and aristolochic acid I: an investigation into the role of soil and soil organic matter contamination as a potential natural exposure pathway. *Environ Geochem Health*. 2018;40:1437–48.
64. Schmeiser HH, Bieler CA, Wiessler M, van Ypersele de Strihou C, Cosyns JP. Detection of DNA adducts formed by aristolochic acid in renal tissue from patients with Chinese herbs nephropathy. *Cancer Res*. 1996;56(9):2025–8.
65. Chen CH, Dickman KG, Moriya M i sur. Aristolochic acid-associated urothelial cancer in Taiwan. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(21):8241–6.
66. De Broe ME. Chinese herbs nephropathy and Balkan endemic nephropathy: toward a single entity, aristolochic acid nephropathy. *Kidney Int*. 2012;81(6):513–5.
67. Jelaković B, Castells X, Tomić K i sur. Renal cell carcinomas of chronic kidney disease patients harbor the mutational signature of carcinogenic aristolochic acid. *Int J Cancer*. 2015;136:2967–72.

68. Brzić I, Brener M, Čarni A i sur. Different ecological niches of poisonous *Aristolochia clematitis* in central and marginal distribution ranges: another contribution to a better understanding of Balkan endemic nephropathy. *Plants (Basel)*. 2023;12(17):3022.
69. Fogazzi G, Bellincioni C. *Aristolochia clematitis*, the herb responsible for aristolochic acid nephropathy, in an uncultivated piece of land of an Italian nephrologists. *Nephrol Dial Transplant* 2015;30:1893-1896
70. Nikolić J, Pejčić T, Crnomarković D, Gavrilović Z, Tulić C. Sporadic Balkan endemic nephropathy beyond the known regions of BEN. *BANTAO J*. 2006;4:15–7.
71. Samardžić J, Karanović S, Tomić K i sur. Aristolactam-DNA adducts are a biomarker of environmental exposure to aristolochic acid out of established endemic nephropathy rural villages. *Nephrol Dial Transplant*. 2017;32 Suppl 3:iii96–iii98.
72. Čvorišćec D. Early diagnosis of endemic nephropathy. *Clin Chim Acta* 2000; 297:85- 91.
73. Ikeda M, Ezaki T, Tsukahara T et al. Critical evaluation of alpha1- and beta2-microglobulins in urine as markers of cadmium-induced tubular dysfunction. *Biometals* 2004; 17: 539–541
74. Bergon E, Granados R, Fernandez-Segoviano P et al. Classification of renal proteinuria: a simple algorithm. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 1143–1150
75. Kidney Disease: Improving Global Outcomes CKD Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*. 2013;3:19–62.
76. Jelaković B, Nikolić J, Radovanović Z, Nortier J, Cosyns JP, Grollman AP, et al. Consensus statement on screening, diagnosis, classification and treatment of endemic (Balkan) nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29:2020–7
77. Danilović V. Diagnosis of endemic nephropathy. *Radovi XLVII AN BiH*. 1973;17:53–64.
78. Premužić V, Ivković V, Leko N i sur. Arterial stiffness in Balkan endemic nephropathy, an environmental form of aristolochic acid nephropathy. *Front Cardiovasc Med*. 2018;5:166.
79. Premužić V, Toupance S, Hollander A i sur. Longer telomere length in patients with Balkan endemic nephropathy undergoing chronic hemodialysis is associated with lower cardiovascular mortality. *Kidney360*. 2024;5(12):1871–80.

80. Domislović M, Domislović V, Stevanović R i sur. Chronic kidney disease in rural population. *Acta Clin Croat.* 2022;61(2):228–38.
81. Dika Ž, Juras J, Kos J i sur. Prevalence, treatment and control of hypertension in a Croatian endemic nephropathy area. *Kidney Blood Press Res.* 2012;35(6):678–86.
82. Čvorišćec D, Čeović S, Boršo G, Stavljenić-Rukavina A. Endemic nephropathy in Croatia. *Clin Chem Lab Med.* 1998;36(5):271–7.
83. Janković Veličković L, Hattori T, Dolićanin Z i sur. Upper urothelial carcinoma in Balkan endemic nephropathy and non-endemic regions: a comparative study of pathological features. *Pathol Res Pract.* 2009;205(2):89–96.
84. Čukuranović R, Ignjatović M, Stefanović V. Urinary tract tumors and Balkan nephropathy in the South Morava River basin. *Kidney Int Suppl.* 1991;34:S80–4.
85. Čukuranović R, Ignjatović I, Višnjić M i sur. Characteristics of upper urothelial carcinoma in an area of Balkan endemic nephropathy in south Serbia: a fifty-year retrospective study. *Tumori.* 2010;96(5):674–9.
86. Šostarić B, Vukelić M. Characteristics of urinary tract tumours in the area of Balkan endemic nephropathy in Croatia. *IARC Sci Publ.* 1991;(115):29–35.
87. Belicza M, Demirović A, Tomić K i sur. Comparison of occurrence of upper urinary tract carcinomas in the region with endemic villages and non-endemic nephropathy region in Croatia. *Coll Antropol.* 2008;32(4):1203–7.
88. Medunjanin D, Sonicki Z, Vena J, Cvitković A, Robb S. Geographic distribution and risk of upper urothelial carcinomas in Croatia, 2001–2011. *BMC Cancer.* 2019;19:950.
89. Karanović S, Vuković Lela I, Jelaković B i sur. Variation in presentation and presence of DNA adducts and p53 mutations in patients with endemic nephropathy: an environmental form of aristolochic acid nephropathy. *Kidney Blood Press Res.* 2013;37(1):1–8.
90. Rukavina L, Živčić-Ćosić S, Markić D, i sur. Long-Term Outcome of Kidney Transplant Patients from Rural Farming Areas with Balkan Nephropathy-A Single-Centre Report. *J Clin Med.* 2026;15(7):2558
91. Bogoslav Šulek. *Jugoslavenski imenik bilja.* Izdavač Jugoslavenska akademija znanostih i umjetnostih. Dionička tiskara Zagreb, 1879.

92. Franjić J, Škvorc Ž. Šumsko zeljasto bilje Hrvatske. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet; 2014.
93. Domac R. Flora Hrvatske: priručnik za određivanje bilja. 2. izd. Zagreb: Školska knjiga; 2002.
94. DeBelle FD, Vanherweghem JL, Nortier JL. Aristolochic acid nephropathy: a worldwide problem. *Kidney Int.* 2008;74(2):158–69.
95. Hegi G. Illustrierte Flora von Mitteleuropa. Vol. 3. U: Wagenitz G, Melzheimer V, Straka H, ur. Singhofen: Paul Parey Verlag; 1981.
96. Mucina L, Bültmann H, Dierßen K i sur. Vegetation of Europe: hierarchical floristic classification system of vascular plant, bryophyte, lichen, and algal communities. *Appl Veg Sci.* 2016;19 Suppl 1:3–264.
97. Nikolić T, ur. Flora Croatica Database [Internet]. Zagreb: Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2005– [pristupljeno 18.06.2025.]. Dostupno na: <http://hirc.botanic.hr/fcd>.
98. Grollman AP, Shibutani S. Aristolochic acid nephropathy and its global implications. *Kidney Int.* 2013;83(4):548–60.
99. Shibutani S, Dong H, Suzuki N i sur. Selective toxicity of aristolochic acids I and II. *Drug Metab Dispos.* 2007;35(8):1217–22.
100. Maleš Ž, Marin N, Plazibat M, Jelaković B. Istraživanje flavonoida i fenolnih kiselina vučje stope – *Aristolochia clematitis* L. *Acta Pharm.* 2009;59(3):245–51. Dostupno na: <https://repozitorij.pharma.unizg.hr/en/islandora/object/pharma%3A754>.
101. Kušan F. Ljekovito i drugo korisno bilje. Zagreb: Poljoprivredni nakladni zavod; 1956. str. 196.
102. Pedanius Dioscorides. *De materia medica: being an herbal with many other medicinal materials written in Greek in the first century of the common era.* Osbaldeston TA, Wood RPA, prev. Johannesburg: Ibidis Press; 2000.
103. Wagner H, Bladt S. *Pharmazeutische Biologie: Drogen und ihre Inhaltsstoffe.* 2. Aufl. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1982.

104. International Agency for Research on Cancer. Aristolochic acids. U: Pharmaceuticals. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2012. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 100A.
105. FDA Warns Consumers to Discontinue Use of Botanical Products that Contain Aristolochic acid. April 11, 2001. pristupljeno 10.5.2026.
106. <http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/Alerts/ucm096388.htm>; REF Plants Containing Aristolochic Acid" (PDF). IARC Monographs-100A: 347–361 pristupljeno 10.5.2026
107. Heinrich M, Chan J, Wanke S, Neinhuis C, Simmonds MSJ. Local uses of Aristolochia species and content of nephrotoxic aristolochic acid 1 and 2: a global assessment based on bibliographic sources. J Ethnopharmacol. 2009;125(1):108–44.
108. Marković M, Nikolić B, Rakonjac LJ, Jovanović V- Etnobotanika, Institut za šumarstvo, Beograd, Srbija, 2024
109. Proleksis enciklopedija <https://proleksis.lzmk.hr/57964/> pristupljeno 14.5.2026
110. Sekerka P. Podražce v Evropě původní a pěstované. 2007 [pristupljeno 28.09.2021.];6:254–6. Dostupno na: <https://ziva.avcr.cz/2007-6/rostliny-s-kvety-veznicimi-hmyz-podrazce-v-evrope-puvodni-a-pestovane.html>
111. Schoener TW. The ecological niche. U: Cherrett JM, ur. Ecological concepts: the contribution of ecology to an understanding of the natural world. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1989. str. 79–113. [PROVJERITI: stranice prema izvoriku; u poslanom tekstu stoji 790–813]
112. Hutchinson GE. Concluding remarks. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 1957;22:415–27.
113. Ellenberg H. Physiologisches und ökologisches Verhalten derselben Pflanzenarten. Ber Dtsch Bot Ges. 1953;65:351–62.
114. Diekmann M, Lawesson JE. Shifts in ecological behaviour of herbaceous forest species along a transect from northern Central to North Europe. Folia Geobot. 1999;34:127–41.
115. Walter H, Breckle SW. Ökologische Grundlagen in globaler Sicht. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1991.

116. Prinzing A, Durka W, Klotz S, Brandl R. Geographic variability of ecological niches of plant species: are competition and stress relevant? *Ecography*. 2002;25(6):721–9.
117. Wasof S, Lenoir J, Gallet-Moron E i sur. Ecological niche shifts of understorey plants along a latitudinal gradient of temperate forests in north-western Europe. *Glob Ecol Biogeogr*. 2013;22(10):1130–40.
118. Wasof S, Lenoir J, Aarrestad PA i sur. Disjunct populations of European vascular plant species keep the same climatic niches. *Glob Ecol Biogeogr*. 2015;24(12):1401–12.
119. Leuschner C, Köckemann B, Buschmann H. Abundance, niche breadth, and niche occupation of Central European tree species in the centre and at the margin of their distribution range. *For Ecol Manag*. 2009;258(7):1248–59.
120. Morin X, Thuiller W. Comparing niche- and process-based models to reduce prediction uncertainty in species range shifts under climate change. *Ecology*. 2009;90(5):1301–13.
121. Papuga G, Gauthier P, Ramos J i sur. Range-wide variation in the ecological niche and floral polymorphism of the western Mediterranean geophyte *Narcissus dubius* Gouan. *Int J Plant Sci*. 2015;176(8):724–38.
122. Kovačević J, Riđanović M, Cipot J. Klima, vegetacija i tla u području Oriovca. *Agron Glas*. 1963;13(6–7):439–44.
123. Pirnat S. Tečaj naprednog gospodarstva. 2. prošireno izd. Zagreb: Seljačka sloga; 1950.
124. Džidić AM, Čizmić I. Farmersko sjeme nije tavanuša. *Sjemenarstvo*. 2011;28(3–4):181–6. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/77867>.
125. Horvat D, Đermić E, Topolovec-Pintarić S. Kvalitetno i zdravo sjeme siguran je put do visokog prinosa. *Glasnik Zaštite Bilja* [Internet]. 2015 [pristupljeno 07.12.2025.];38(5):58–68. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/162361>.
126. Mikulić M, Matković I. Early mechanization in Croatian agriculture. *Agric Hist Rev*. 2002;50(1):77–88.
127. Brčić J. Mehanizacija u biljnoj proizvodnji. Zagreb: Školska knjiga; 1981.

128. Precision agriculture modernising Croatian farming [Internet]. Croatia Week; [pristupljeno 13.05.2025.]. Dostupno na: <https://www.croatiaweek.com/precision-agriculture-modernising-croatian-farming/>.
129. Farm machinery innovations 2025: latest agricultural tech [Internet]. Farmonaut; 2025 Jul 9 [pristupljeno 03.09.2025.]. Dostupno na: <https://farmonaut.com/precision-farming/farm-machinery-innovations-2025-latest-agricultural-tech>.
130. How are drones used in agriculture? [Internet]. growAG; [pristupljeno 13.05.2025.]. Dostupno na: <https://www.growag.com/highlights/article/how-are-drones-used-in-agriculture>.
131. Precision agriculture: transforming farming with technology [Internet]. iGrow News; [pristupljeno 11.11.2025.]. Dostupno na: <https://igrownews.com/precision-agriculture-transforming-farming-with-technology/>.
132. Petričević J, Blašković P, Mihletić A, Regan Đ. Gospodarska osnova za Jelas-polje. Zagreb: Glavno ravnateljstvo za seljačko gospodarstvo, Ministarstvo seljačkog gospodarstva i prehrane; 1944.
133. Hrvatska, Državni arhiv u Slavonskom Brodu, fond 219, Poljoprivredna zadruga s ograničenim jamstvom Gradiška Bebrina. Historijski podaci o tvorcu fonda.
134. Hrvatska, Državni arhiv u Slavonskom Brodu, fond 219, Poljoprivredna zadruga s ograničenim jamstvom Gradiška Bebrina, k. x. Pravila o organizaciji i radu Poljoprivredne zadruge u Bebrini, 1. 7. 1961.
135. Hrvatska, Državni arhiv u Slavonskom Brodu, fond 219, Poljoprivredna zadruga s ograničenim jamstvom Gradiška Bebrina, k. x. Rješenje Okružnog privrednog suda u Osijeku, 27. 2. 1959.
136. Hrvatska, Državni arhiv u Slavonskom Brodu, fond 219, Poljoprivredna zadruga s ograničenim jamstvom Gradiška Bebrina. Tarifni pravilnik za 1959.
137. Ristanović M, Dimić N, Beš A. Pesticidi i mogućnosti njihove primjene. Sarajevo: NIP Zadrugar; 1975.
138. Kuzmanić N. Herbicidi osiguravaju veće prinose žitarica. Agron Glas [Internet]. 1960 [pristupljeno 10.05.2026.];10(11–12):630–1. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/166404>.

139. Miceljski M. Integralna zaštita pšenice. Agron Glas [Internet]. 1985 [pristupljeno 10.05.2026.];47(3–4):95–101. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/146120>.
140. Meyer S, Wesche K, Krause B, Leuschner C. Dramatic losses of specialist arable plants in Central Germany since the 1950/60s: a cross regional analysis. Divers Distrib. 2013;19:1175–87.
141. Fabijanić G, Kovačev I. Steam engines in agricultural use in Croatia and Slavonia during the Austro-Hungarian Monarchy. Die Bodenkultur. 2019;70(3):147–59.
142. Brkić D, Vujčić M, Šumanovac L. Strojevi za žetvu i berbu zrnatih plodina. Vinkovci: vlastita naklada; 2002.
143. Dobrić V. Od sjetve do vršidbe – Žetva [Internet]. Blog.hr; 2015 [pristupljeno 17. 10. 2024.]. Dostupno na: <https://blog.dnevnik.hr/vjenceslav1943/2015/10/index.2.html>
144. Stanković S. Osnovi tehnologije poljoprivrednih proizvoda. I. deo: Ratarska tehnologija. Beograd: Naučna knjiga, Univerzitet u Beogradu; 1954.
145. Vajs Vinja N i sur. Veliki rječnik hrvatskoga standardnog jezika. Zagreb: Školska knjiga; 2015.
146. Hrvatska enciklopedija [Internet]. Zagreb: Leksikografski zavod Miroslav Krleža; 2023 [pristupljeno 13.05.2026.]. Dostupno na: <https://www.enciklopedija.hr/>.
147. Sršan S. Popis sandžaka Požega 1579. godine. Osijek: Državni arhiv u Osijeku; 2001.
148. Kolar-Dimitrijević M, Wagner E. Vodenice u Hrvatskoj (18. - 20. stoljeće) kao primjer odnosa između ljudi i rijeka/potoka. Ekonomska i ekohistorija [Internet]. 2007 [pristupljeno 13.05.2026.];3(1):83-120. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/50471>
149. Bičanić R. Doba manufakture u Hrvatskoj i Slavoniji. Zagreb: Jugoslavenska akademija znanosti i umjetnosti; 1951.
150. Čižmek M i sur. Oriovac: prilozi za povijest mjesta. Oriovac: Apel; 1971.
151. Le Goff J. Civilizacija srednjovjekovnog Zapada. Zagreb: Golden marketing; 1998.
152. Narodne novine. Zagreb; 13. 10. 1884.
153. Nedjeljni počinak. Glasnik županije požeške. 1891 srp 25;4; 1891 kol 1;3–4.
154. Nedjeljni počinak kod mlinova. Glasnik županije požeške. 1903 sij 31;3.
155. Počinak obrtne radnje nedjeljom i blagdanima. Glasnik županije požeške. 1914 svi 16;1.

156. Mlinska klada. Danica ilirska. 1865 ruj 2;274.
157. Naredba o meljavi na ušur. Glasnik županije požeške. 1916 pro 23;3.
158. Jagodar J, Berbić Kolar E. Kultura pamćenja Slavonskoga Kobaša u povijesno-jezičnom kontekstu. Osijek: Fakultet za odgojne i obrazovne znanosti Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku; 2020. str. 72.
159. Adrović A. Mlinovi na Orljavi. Posavska Hrvatska. 1990 velj 9;6; 1990 velj 16; 1990 velj 23.
160. Ema mlin u Požegi. Glasnik županije požeške. 1919 lis 25;2.
161. Čížmek M i sur. Oriovac: prilozi za povijest mjesta. Oriovac: Apel, Zavod za ekonomsku propagandu i publicitet; 1971. str. 50–2.
162. Miholek V. Dravske vodenice i mlinovi potočari đurđevačke Podravine od polovice 18. do polovice 20. stoljeća. Podravina. 2013;12(24):120–40.
163. Feletar D. Geografsko-demografske značajke Regionalnog parka Mura-Drava. Podravina. 2013;12(24):11–32.
164. Harris J. Wheat flour milling: from millstones to rollers. London: The Mills Archive Trust; 2017.
165. Williams B, Mancia G, Spiering W i sur. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. Eur Heart J. 2018;39:3021–104.
166. <https://dzs.gov.hr/istaknute-teme-162/popisi-stanovnistva-2/popis-stanovnistva-2011/196>
2.<https://podaci.dzs.hr/2022/en/29031>, pristupljeno 12.4.2023.
167. Chytrý M, Hennekens SM, Jiménez-Alfaro B i sur. European Vegetation Archive (EVA): an integrated database of European vegetation plots. Appl Veg Sci. 2016;19:173–80.
168. Braun-Blanquet J. Pflanzensoziologie: Grundzüge der Vegetationskunde. 3. Aufl. Wien: Springer-Verlag; 1964. 865 str.
169. Knollová I, Chytrý M, Tichý L, Hájek O. Stratified resampling of phytosociological databases: some strategies for obtaining more representative data sets for classification studies. J Veg Sci. 2006;16:479–86.
170. Bray JR, Curtis JT. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. Ecol Monogr. 1957;27(4):325–49.

171. Lengyel A, Chytrý M, Tichý L. Heterogeneity-constrained random resampling of phytosociological databases. *J Veg Sci*. 2011;22:175–83.
172. Wiser SK, De Cáceres M. Updating vegetation classifications: an example with New Zealand's woody vegetation. *J Veg Sci*. 2013;24:80–93.
173. Zelený D, Chytrý M. Ecological specialization indices for species of the Czech flora. *Preslia*. 2019;91(2):93–116.
174. Fridley J, Vandermaast D, Kuppinger D, Manthey M, Peet R. Co-occurrence based assessment of habitat generalists and specialists: a new approach for the measurement of niche width. *J Ecol*. 2007;95:707–22.
175. R Core Team. R: a language and environment for statistical computing [Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2017 [pristupljeno 17.02.2023.]. Dostupno na: <https://www.R-project.org/>.
176. Theta [Internet]. GitHub; [pristupljeno 115.02.2023.]. Dostupno na: <https://github.com/zdealveindy/theta>.
177. Chytrý M, Tichý L, Hennekens SM i sur. EUNIS Habitat Classification: expert system, characteristic species combinations and distribution maps of European habitats. *Appl Veg Sci*. 2020;23(4):648–75.
178. Karger DN, Conrad O, Böhner J i sur. Climatologies at high resolution for the Earth's land surface areas. *Sci Data*. 2017;4:170122.
179. Tichý L, Axmanová I, Dengler J i sur. Ellenberg-type indicator values for European vascular plant species. *J Veg Sci*. 2023;34:e13168.
180. Midolo G, Herben T, Axmanová I i sur. Disturbance indicator values for European plants. *Glob Ecol Biogeogr*. 2023;32:24–34.
181. Tichý L. JUICE, software for vegetation classification. *J Veg Sci*. 2002;13:451–3.
182. QGIS Development Team. QGIS Geographic Information System [Internet]. Open Source Geospatial Foundation Project; 2024 [pristupljeno 12.03.2025.]. Dostupno na: <https://qgis.org>.
183. Carlson AL, Bergfur J, Milberg P. Comparison of data from two vegetation monitoring methods in semi-natural grasslands. *Environ Monit Assess*. 2005;100:235–48.

184. Uređena zemlja. One Stop Shop [Internet]. [pristupljeno 21.01.2026.]. Dostupno na: <https://oss.uredjenazemlja.hr>.
185. Državna geodetska uprava. Geoportal DGU [Internet]. [pristupljeno 17.03.2026.]. Dostupno na: <https://geoportal.dgu.hr/>.
186. Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju. ARKOD preglednik [Internet]. [pristupljeno 04.02.2025.]. Dostupno na: <https://preglednik.arkod.hr/>.
187. Sulyok M, Stadler D, Steiner D, Krska R. Validation of an LC-MS/MS-based dilute-and-shoot approach for the quantification of more than 500 mycotoxins and other secondary metabolites in food crops: challenges and solutions. *Anal Bioanal Chem.* 2020;412(12):2607–20.
188. Hrvatska, Povijesni arhiv Požeške biskupije, HR-PAPB-48.22. Status animarum, Slavonski Kobaš, 1858.–1862.; 1860.–1867.
189. Hrvatska, Povijesni arhiv Požeške biskupije, HR-PAPB-48.23. Status animarum, Slavonski Kobaš, 1862.–1873.; 1876.–1886.
190. Hrvatska, Povijesni arhiv Požeške biskupije, HR-PAPB-48.24. Status animarum, Slavonski Kobaš, 1889.–1902.
191. Povijesni arhiv Požeške biskupije, HR-PAPB-48.25. Status animarum, Slavonski Kobaš, 1902.–1917.
192. Hrvatska, Povijesni arhiv Požeške biskupije, HR-PAPB-48.26. Status animarum, Slavonski Kobaš, 1918.–1940.
193. Hrvatska, Povijesni arhiv Požeške biskupije, HR-PAPB-48.27. Status animarum, Slavonski Kobaš, 1941.–1960.
194. Hrvatska, Državni arhiv u Slavonskom Brodu, HR-DASB-343/2. Parice matične knjige umrlih rkt. Župe Slavonski Kobaš, 1886.–1946.
195. Hrvatska, Arhiv Rimokatoličke župe Slavonski Kobaš. Matica umrlih, 1949.–2019.
196. Hrvatska, Hrvatski državni arhiv, HR-HDA-1421 DGU P-156 Slavonski Kobaš.
197. Hrvatska, Hrvatski državni arhiv, HR-HDA-1421 DGU KO Slavonski Kobaš. Upisnik kućnih čestica, 1856.

198. Državna geodetska uprava. Dokumentacija dostavljena na zahtjev, KLASA: 938-01/24-02/709, URBROJ: 541-05-02-01/5-24-2; Zagreb, 12. 8. 2024. Dostupno na: <https://oblak.dgu.hr/index.php/s/92crX2KLjJFckdC>.
199. Draper NR, Smith H. Applied regression analysis. 3rd ed. New York: Wiley; 1998.
200. Motulsky H, Christopoulos A. Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression. Oxford: Oxford University Press; 2004.
201. Chatfield C. The analysis of time series: an introduction. 6th ed. Boca Raton: CRC Press; 2004.
202. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. JAMA. 2013;310(20):2191–4.
203. International Council for Harmonisation. Guideline for Good Clinical Practice E6(R2). Geneva: International Council for Harmonisation; 2016.
204. The Nuremberg Code. U: Trials of war criminals before the Nuremberg Military Tribunals. Washington (DC): US Government Printing Office; 1949.
205. European Parliament and Council. Regulation (EU) 2016/679, General Data Protection Regulation. Off J Eur Union. 2016;L119:1–88.
206. Spearman C. The proof and measurement of association between two things. Am J Psychol. 1904;15(1):72–101.
207. Plants For A Future. Aristolochia clematitis [Internet]. [pristupljeno 23.05.2025.]. Dostupno na: <https://pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Aristolochia+clematitis>.
208. Brown JH. On the relationship between abundance and distribution of species. Am Nat. 1984;124:255–79.
209. Chardon NI, Cornwell WK, Flint LE, Flint AL, Ackerly DD. Topographic, latitudinal and climatic distribution of *Pinus coulteri*: geographic range limits are not at the edge of the climate envelope. Ecography. 2014;38:590–601.
210. Pironon S, Villellas J, Morris WF, Doak DF, García MB. Do geographic, climatic or historical ranges differentiate the performance of central versus peripheral populations? Glob Ecol Biogeogr. 2015;24:611–20.

211. Šilc U, Lososová Z, Vrbničanin S. Weeds shift from generalist to specialist: narrowing of ecological niches along a north-south gradient. *Preslia*. 2014;86:35–46.
212. MacArthur RH. Geographical ecology: patterns in the distribution of species. New York: Harper & Row; 1972.
213. Manthey M, Fridley JD, Peet RK. Niche expansion after competitor extinction? A comparative assessment of habitat generalists and specialists in the tree floras of southeastern North America and south-eastern Europe. *J Biogeogr*. 2011;38:840–53.
214. Preislerová Z, Jiménez-Alfaro B, Mucina L i sur. Distribution maps of vegetation alliances in Europe. *Appl Veg Sci*. 2022;25:e12642.
215. Clavel J, Julliard R, Devictor V. Worldwide decline of specialist species: toward a global functional homogenization? *Front Ecol Environ*. 2011;9:222–8.
216. Đaković Z. Floristički sastav i ekonomska učinkovitost suzbijanja korova u pšenici [diplomski rad]. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti; 2018. Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:747713>.
217. Kolak I. Floristički sastav korovnih zajednica uz rubove polja i njihov značaj za bioraznolikost i oprašivače [diplomski rad]. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti; 2019. Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:989382>.
218. Storkey J, Meyer S, Still KS, Leuschner C. The impact of agricultural intensification and land-use change on the European arable flora. *Proc Biol Sci*. 2011;279(1732):1421–9.
219. Fried G, Petit S, Dessaint F, Reboud X. Arable weed decline in Northern France: crop edges as refugia for weed conservation? *Biol Conserv*. 2009;142(1):238–43.
220. Tung K, Chan CK, Zhao Y, i sur. Occurrence and environmental stability of aristolochic acids in groundwater collected from Serbia: links to human exposure and Balkan endemic nephropathy. *Environ Sci Technol*. 2020;54:1554–61
221. Au Ch, Zhang J, Chan Ch i sur. Determination of Aristolochic Acids in Vegetables: Nephrotoxic and Carcinogenic Environmental Pollutants Contaminating a Broad

Swath of the Food Supply and Driving Incidence of Balkan Endemic Nephropathy. Chem. Res. Toxicol. 2020, 33, 2446–2454

222. Gruia A, Oprean C, Ivan A. Balkan endemic nephropathy and aristolochic acid I: an investigation into the role of soil and soil organic matter contamination, as a potential natural exposure pathway. Environ Geochem Health 2018; 40:1437–1448
223. Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Ad hoc radna grupa. Znanstveno izvješće o pojavnosti aristolohične kiseline kao uzročnika endemske nefropatije u Republici Hrvatskoj. Osijek: Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu; 2022 [pristupljeno 07.04.2026.]. Dostupno na: <https://www.hapih.hr/csh/upisnik-znanstvenih-misljenja/>.
224. Krička, T, Kiš, D, Matin, A, Brlek, T, Bilandžija, N. Tehnologija mlinarstva, Osijek: Poljoprivredni fakultet ; Zagreb: Agronomski fakultet, 2012

POPIS SLIKA

- Slika 1. Žarišta BN-a u Hrvatskoj, Bosni, Srbiji, Bugarskoj i Rumunjskoj
- Slika 2. Vučja stopa (*Aristolochia clematitis*) u polju pšenice za vrijeme žetve te među zrnima pšenice (fotografija: Ivan Brzić, srpanj 2021.)
- Slika 3. Razlike u starom i novom načinu separacija/odvajanja te razlike u veličini otvora na separatorima (fotografija Ivan Brzić, ljeto 2021.)
- Slika 4. Patohistološki prikaz bubrega bolesnika s BEN-om iz sela Kaniža (ljubaznošću dr. Karle Tomić)
- Slika 5. Bubrež s tumorom u pijelonu (lijevo) i ureteru (desno) – bolesnik iz hrvatskoga endemskog žarišta (ljubaznošću dr. Karle Tomić)
- Slika 6. Histološki izgled papilarnog urotelnog karcinoma niskog gradusa, 6A-HEx40; 6B-HEx200 (A i B); histološka slika papilarnog urotelnog karcinoma visokog gradusa, 7A-HEx100; 7B-HEx400 (C i D)
- Slika 7. *Aristolochia clematitis* u žitnom polju sa zrelim plodovima u vrijeme žetve
- Slika 8. Kemijska struktura aristolohične kiseline AAI i AA II
- Slika 9. Struktura i distribucija namjene zemljišta na hrvatskom endemskom području iz 1944. godine
- Slika 10. Vršidba pšenice vršalicom, 40-e god. 20. st. (Muzej Brodskog Posavlja Zbirka fotografija MBP-26480)
- Slika 11. Shema višefaznog načina žetve
- Slika 12. Shema kombajniranja
- Slika 13. a) vodenica na Dravi, b) vodenica na Muri oko 1950. godine, c) vodenica na Savi kraj sela Kaniža, d) vodenica na Savi 1. polovica 20. st.
- Slika 14. Unutrašnjost mlina u Kaniži
- Slika 15. Silos i mlin u Brodskom Stupniku, (Ivan Brzić, 2025.)
- Slika 16. Dijagram istraživanja
- Slika 17. Dizajn istraživanja
- Slika 18. Dijagram odabira kvadranata za analizu ekološke niše
- Slika 19. Prikaz regija za usporedbu ekoloških obrazaca promatrane vrste *Aristolochia clematitis*

- Slika 20. Područja na kojima je određivana prisutnost biljke vučja stopa (*Aristolochia clematitis*) na poljoprivrednim površinama na kojima se uzgajaju žitarice u endemskim i ne-endemskim područjima
- Slika 21. Biljka *Aristolochia clematitis* u polju pšenice na endemskom području u katastarskoj općini Kaniža
- Slika 22. Prikaz poljoprivredne površine razdijeljene u četiri kategorije za određivanje broja vučje stope u jedinici mjerenja
- Slika 23. Područja uzorkovanja za određivanje prisutnosti aristolohične kiseline u zrnu pšenice i tlu
- Slika 24. Karta prostornog korištenja zemljišta u katastarskoj općini Slavonski Kobaš, 1891. godine s označenim katastarskim česticama uzorkovanih zdravih ili bolesnih posjednika.
- Slika 25. Poljoprivredna tehnološka unaprjeđenja i pad prevalencije Balkanske nefropatije u hrvatskom endemskom žarištu
- Slika 26. Udio bolesnika s Balkanskom nefropatijom liječenih kroničnom hemodijalizom u Slavonskome Brodu kroz period praćenja od trideset godina
- Slika 27. Bolesnici s Balkanskom nefropatijom koji su počeli s liječenjem kroničnom hemodijalizom (A) i koji su operirani zbog karcinoma gornjeg dijela mokraćnog sustava (UUC) (B) u Slavonskom Brodu kroz period od 2005. do 2022. godine razvrstani prema selima
- Slika 28. Zbirni prikaz bolesnika s Balkanskom nefropatijom koji su počeli s liječenjem kroničnom hemodijalizom (prva znamenka) i koji su operirani zbog karcinoma gornjeg dijela mokraćnog sustava (druga znamenka) u Slavonskome Brodu kroz period od 2005. do 2022. godine razvrstani prema selima
- Slika 29. Incidencije novih bolesnika na kroničnoj hemodijalizi (crveno) i broj operiranih bolesnika zbog karcinoma gornjeg dijela mokraćnog sustava (plavo) (UUC) u Slavonskom Brodu kroz period praćenja od trideset godina
- Slika 30. Model praktičnog iščezavanja Balkanske nefropatije u hrvatskom endemskom žarištu

- Slika 31. Udio pojedinih stanišnih tipova i vegetacijskih razreda na kojima dolazi vrsta *Aristolochia clematitis* u cjelokupnom skupu podataka (851 vegetacijska snimka)
- Slika 32. Veza između udaljenosti centroida pojedinih kvadranata (200 × 200 km) od geografskog središta distribucije vrste i ekološkog indeksa specijalizacije (ESI) u tom kvadrantu
- Slika 33. Vrijednosti ekološkog indeksa specijalizacije (ESI) u analiziranim kvadrantima 200 x 200 km
- Slika 34. Box i Whiskers dijagrami koji prikazuju razlike u Ellenbergovim indikatorskim vrijednostima (EIV) za svjetlo između središnjeg i rubnih dijelova areala
- Slika 35. Box i Whiskers dijagrami koji prikazuju razlike u indikatorskim vrijednostima za poremećaj staništa između središnjeg i rubnih dijelova areala
- Slika 36. Postotni udio pojedinih tipova staništa u središnjem i rubnim dijelovima areala
- Slika 37. Broj *Aristolochia clematitis* na istraživanim područjima na međi uzimajući u obzir sve ratarske kulture
- Slika 38. Broj *Aristolochia clematitis* na istraživanim područjima unutar 2 m od međe uzimajući u obzir sve ratarske kulture
- Slika 39. Broj *Aristolochia clematitis* na istraživanim područjima na međi uzimajući u obzir samo površine zasijane pšenicom
- Slika 40. Broj *Aristolochia clematitis* na istraživanim područjima unutar 2 m od međe uzimajući u obzir samo površine zasijane pšenicom
- Slika 41. Broj *Aristolochia clematitis* na istraživanim područjima u središnjem dijelu kada se promatraju polja neovisno o zasijanim kulturama (A) i polja zasijana pšenicom (B)
- Slika 42. Postotni udio katastarskih čestica na kojima je prisutna *Aristolochia clematitis* po istraživanim područjima
- Slika 43. Usporedba sita suvremenoga kombajna i vršalice koja se koristila u dvofaznoj vršidbi, Brzić I. 2022, a) Podesivo sito suvremenoga kombajna b) Sito vršalice s fiksnim otvorima

- Slika 44. Vrijednosti aristolohične kiseline u uzorcima tla
- Slika 45. Prikaz ovisnosti broja biljaka *Aristolochia clematitis* i sadržaja aristolohične kiseline u tlu
- Slika 46. Prostorni raspored posjednika poljoprivrednih površina iz skupina bolesni i zdravi na području katastarske općine Slavonski Kobaš prije 1960
- Slika 47. Postotni udio čestica skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi prema prostornoj pojavnosti.
- Slika 48. Prosječan broj čestica skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi prema prostornom rasporedu (kvadrantima)
- Slika 49. Ukupan broj čestica skupine bolesni/sumnjivi i skupine zdravi prema prostornom rasporedu (kvadrantima)

POPIS TABLICA

- Tablica 1. Karakteristike nefropatije kineskih trava i Balkanske nefropatije dva oblika nefropatije aristolohične kiseline
- Tablica 2. „Bračka klasifikacija“ Balkanske nefropatije
- Tablica 3. Prosječni prinosi po 1 ha prije i nakon melioracije
- Tablica 4. Udio stanovništva iz pojedinog sela uključen u istraživanje
- Tablica 5. Prikaz broja biljaka *Aristolochia clematitis* prema uzorcima tla i pšenice
- Tablica 6. Demografske, epidemiološke, kliničke i laboratorijske karakteristike stanovnika endemskih i neendemskih sela
- Tablica 7. Spearman-ove korelacije između ESI i medijana, te ESI i kvartilnog raspona za varijable koje opisuju ekološku nišu vrste *Aristolochia clematitis*
- Tablica 8. Rezultati Kruskal-Wallis-ovog H testa razlika u broju biljaka vučje stope na poljoprivrednim površinama između istraživanih područja.
- Tablica 9. Razlike između istraživanih područja s obzirom na postotni udio katastarskih čestica na kojima je prisutna *Aristolochia clematitis*
- Tablica 10. Broj biljaka *Aristolochia clematitis* po m² te prisutnost aristolohične kiseline u uzorcima sjemena pšenice i tla
- Tablica 11. Rezultati probnog vršenja pšenice kombajnom na rubnom dijelu parcele s prisutnom vrstom *Aristolochia clematitis*
- Tablica 12. Prisutnost aristolohične kiseline (AA-I) u uzorcima tla na endemskom i ne-endemskom području
- Tablica 13. Prikaz skupina bolesni i zdravih prema vrstama tala i prostornom rasporedu
- Tablica 14. Opažanja stanovnika endemskih i neendemskih sela biljke vučja stopa na poljima, i sjemenki vučje stope pomiješane sa sjemenkama pšenice u dva analizirana vremenska perioda

- Tablica 15. Karakteristike polja, te poljoprivredno tehnološki postupci uzgoja pšenice stanovnika endemskih i neendemskih sela u periodima prije 1970. godine i nakon 2005. godine
- Tablica 16. Skladištenje pšenice i postupci prerade (mljevenja) stanovnika endemskih i neendemskih sela u periodima prije 1970. godine i nakon 2005. godine
- Tablica 17. Zbirni prikaz razlika nakon 2005. godine u odnosu na period od prije 1970. godine - stanovnici endemskoga područja
- Tablica 18. Razlike između endemskih sela i neendemskog sela
- Tablica 19. Kronologija promjena u tehnologiji žetve, separacije i prerade pšenice u endemskom kraju tijekom XX. stoljeća

POPIS POKRATA

Kratica	Značenje
² α-1MCR	omjer alfa-1-mikroglobulina i kreatinina u urinu
³ eGFR	procijenjena brzina glomerularne filtracije
6A-HEx40	bojenje hematoksilinom i eozinom, povećanje 40 puta
6B-HEx200	bojenje hematoksilinom i eozinom, povećanje 200 puta
7A-HEx100	bojenje hematoksilinom i eozinom, povećanje 100 puta
7B-HEx400	bojenje hematoksilinom i eozinom, povećanje 400 puta
AA	aristolohična kiselina
AA I	aristolohična kiselina I
AA II	aristolohična kiselina II
AAN	nefropatija uzrokovana aristolohičnom kiselinom
AC	<i>Aristolochia clematitis</i> L. - vučja stopa
ACR	omjer albumina i kreatinina u urinu
AH	arterijska hipertenzija
AI	umjetna inteligencija
alfa1CR	omjer alfa-1-mikroglobulina i kreatinina; rani biljeg tubularnog oštećenja
AT	arterijski tlak
A-T	par baza adenin–timin
AT-TA tranzicije	transverzije A:T u T:A u kontekstu mutacijskog ptpisa
	aristolohične kiseline
BEN	balkanska nefropatija
BN	balkanska nefropatija
BN Prospec nephelometer	BN ProSpec nefelometar
BO	broj osiguranika
bojenje HE	bojenje hematoksilinom i eozinom
CDC	Centri za kontrolu i prevenciju bolesti SAD-a

CHELSEA v2.1	klimatologije visoke rezolucije za površinu Zemlje
CHOD-PAP	enzimska kolorimetrijska metoda za određivanje kolesterola
CJASN	Klinički časopis Američkog nefrološkog društva
CKD EPI	Konzorcij za epidemiologiju kronične bubrežne bolesti
CKD-EPI	jednadžba Konzorcija za epidemiologiju kronične bubrežne
jednadžba	bolesti
COVID – 19	koronavirusna bolest 2019.
DKP	digitalni katastarski plan
DNA	deoksiribonukleinska kiselina
EDTA	etilendiamintetraoctena kiselina
eGFR	procijenjena brzina glomerularne filtracije
EH - UH 2	Epidemiologija hipertenzije i unos kuhinjske soli u Hrvatskoj 2
EIV	Ellenbergove indikatorske vrijednosti
EKG	elektrokardiogram
EMA	Europska agencija za lijekove
ENAH	Endemska nefropatija u Hrvatskoj - epidemiologija, dijagnostika i etiopatogeneza
ERM-DA470	europski referentni materijal DA470, kalibrator serumskih
kalibrator	proteina
ESI	indeks ekološke specijalizacije
EUNIS	Europski informacijski sustav o prirodi
EUNIS-ESy v.	verzija ekspertnog sustava EUNIS
FDA	Američka agencija za hranu i lijekove
GPO-PAP	enzimska kolorimetrijska metoda za određivanje triglicerida
GPS	globalni sustav pozicioniranja
HAZU	Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti
HCR	nasumično ponovno uzorkovanje ograničeno heterogenošću
HD	hemodijaliza
Hgb	hemoglobin

IARC	Međunarodna agencija za istraživanje raka
ID/MS	masena spektrometrija s izotopnim razrjeđenjem
IEM Mobil-O-Graph PWA	uređaj za mjerenje brahijalnog i centralnog arterijskog tlaka te krutosti velikih krvnih žila
IoT	internet stvari
IQR	interkvartilni raspon
ITM	indeks tjelesne mase
JASN	Časopis Američkog nefrološkog društva
JUICE	program JUICE za obradu vegetacijskih podataka
KBB	kronična bubrežna bolest
KBC	klinički bolnički centar
KDIGO	Međunarodna inicijativa za poboljšanje ishoda bubrežnih bolesti
KV	kardiovaskularni
LC-ESI-MS/MS	tekućinska kromatografija s ionizacijom elektrosprejem i tandemskom masenom spektrometrijom
LDL	lipoprotein niske gustoće
LOQ	granica kvantifikacije
MET	tim za medicinski pregled
MGRS	vojni mrežni referentni sustav
m-TOR	mehanistička/meta rapamicinska kinaza; engl. mechanistic target of rapamycin
NERL	primarni referentni materijal NERL-a
NIH	Nacionalni instituti za zdravlje SAD-a
NM-BAPTA	kelator kalcija NM-BAPTA
p53	protein p53, tumorski supresorski protein p53
PEG	polietilen-glikol
PNAS	Zbornik radova Nacionalne akademije znanosti SAD-a
PT	proksimalni tubul
PTD	oštećenje proksimalnih tubula

PVC	polivinil-klorid
PWV	brzina pulsnog vala
QGIS	QGIS geografski informacijski sustav
SES	socioekonomski status
SFRJ	Socijalistička Federativna Republika Jugoslavija
SRM 956c	standardni referentni materijal 956c
SZO	Svjetska zdravstvena organizacija
T-A	par baza timin–adenin
Tp53	gen TP53, gen za tumorski protein p53
UCC	urotelni karcinom / karcinom urotelnog epitela
UUC	karcinom gornjeg dijela mokraćnog sustava
UV	ultraljubičasto zračenje / ultraljubičasti
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija
α -1/UAC	omjer alfa-1-mikroglobulina i albumina/kreatinina u urinu

PRILOZI

Prilog 1.

Tablica 1S. Površine pod pšenicom i kukuruzom te prosječni prirod pšenice na endemskom području oko 1944. godine [132]

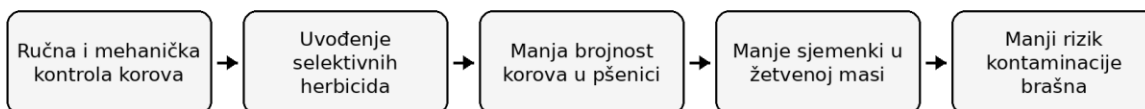
Upravna općina	Oranice (ha)	Pšenica (ha)	Kukuruz (ha)	Prosječni prirod pšenica (q/ha)
Brodski Varoš	806,1	322,4	322,4	15,6
Sibinj	1.637,10	654,8	654,8	13,8
Stupnik	830,4	332,2	332,2	13
Oriovac	885,6	354,2	354,2	13,4
Kaniža	1.186,20	296,6	771	10,4
Bebrina	2.049,40	512,4	1.332,10	11
Kobaš	1.030,80	257,7	670	12,1
Lužani	469	187,6	187,6	13,5
Ukupno	8.894,60	2.917,90	4.624,30	

Prilog 2. Herbicidi

Tablica 2S. Pregled herbicida korištenih u različitim poljoprivrednim kulturama u RH od 1960-tih godina

Kultura / skupina kultura	Primjenjivani herbicidi / pripravci	Napomena o primjeni
Livade i pašnjaci / trave	Afalon, Camparol, Gesagard 50, Gramoxon, Mezoraniil, Prohelan, Prometrin S-50, Treflan, Lasso	Primjenjivani za suzbijanje različitih korova u travnim površinama.
Kukuruz	Chromozin combi AD, Radazin combi MG 25	Primjena prije ili nakon nicanja, ovisno o vrsti korova i stanju usjeva.
Žitarice	Monosan combi, Korovicid combi	Često primjenjivani u fazi bokorenja radi suzbijanja širokolisnih korova.
Strne žitarice	Korovicid, Monosan, Deherban A, Maisan EB-50, Amiten D	Korišteni za suzbijanje korova u strnim žitaricama.
Celer, cikla, dinja, djetelina, duhan, grah i grašak	Afalon, Gesagard 50, Prohelan, Patoran 50, Bonalan, Betanal, Piramin, Lasso, Ramrod, Treflan, Aretit, Bilanidex, Deherban M, Dikotex P, Igran, Mezoraniil, Prometrin S-50, Trasan i dr.	Primjena uz poštivanje specifičnih doza i fenofaza pojedine kulture.
Kulture tretirane pripravcima na bazi MCPA	Deherban M, Dikotex P, Trasan	Široko zastupljeni pripravci, samostalno i u kombinacijama.
Kombinacije pripravaka na bazi MCPA	Deherban forte, Neosan, Banvel M, kombinacije iz proizvodnje Ruše	Korišteni kao kombinirani herbicidni pripravci.
Kupus, kelj i karfiol	Basfapon, Dikopan, Gesagard 50, Mezoraniil, Lasso, Prohelan, Prometrin S-50, Ramrod, Treflan	Primjena u povrtnim kulturama iz skupine kupusnjača.
Strne žitarice, livade i pašnjaci	Banvel P, Deherban combi, Deherban fluid, Deherban specijal, Dicofluid MP-combi, Hedonal MCPP	Pripravci na bazi mekopropa.
Pšenica, ozima i jara	Aktril, Aktril M, Amiten D, Aretit flüssig, Banvel DP, Banvel M, Banvel P, Bladex, Deherban A, Deherban forte, Deherban fluid, Deherban combi, Deherban M, Deherban specijal, Dikofluid DP, Dikofluid MP-Combi, Dikotex P, Dikuran WP-80, Dosaneks, Faneron 50, Gesaman, Hedonal DP, Hedonal MCPP, Igran, Keropur, Korovicid, Korovicid Combi, Lumeton 2412, Monosan, Monosan Combi, Neosan, Pescoprop, Trasan, U 46 KV Fluid	Korišten je velik broj herbicida za suzbijanje korova u pšenici.
Voćni rasadnici	Deherban A, Deherban forte, Lumeton 2412	Primjena u rasadničkoj proizvodnji.
Šećerna i stočna repa	Arezin, Casoron G, Desatop 50, Gramoxon, Reglon	Primjenjivani u proizvodnji repe.
Salata	Basfapon, Betanal, Piramin, Reglone, Ronit, Ronit + Venzar, Venzar	Primjenjivani u proizvodnji salate.
Suncokret	Atrazin, Deherban AT T, Deherban forte, Deherban M, Gesatop, Monosan, Trasan	Primjenjivani za suzbijanje korova u suncokretu.

Uloga herbicida u smanjenju kontaminacijskog rizika

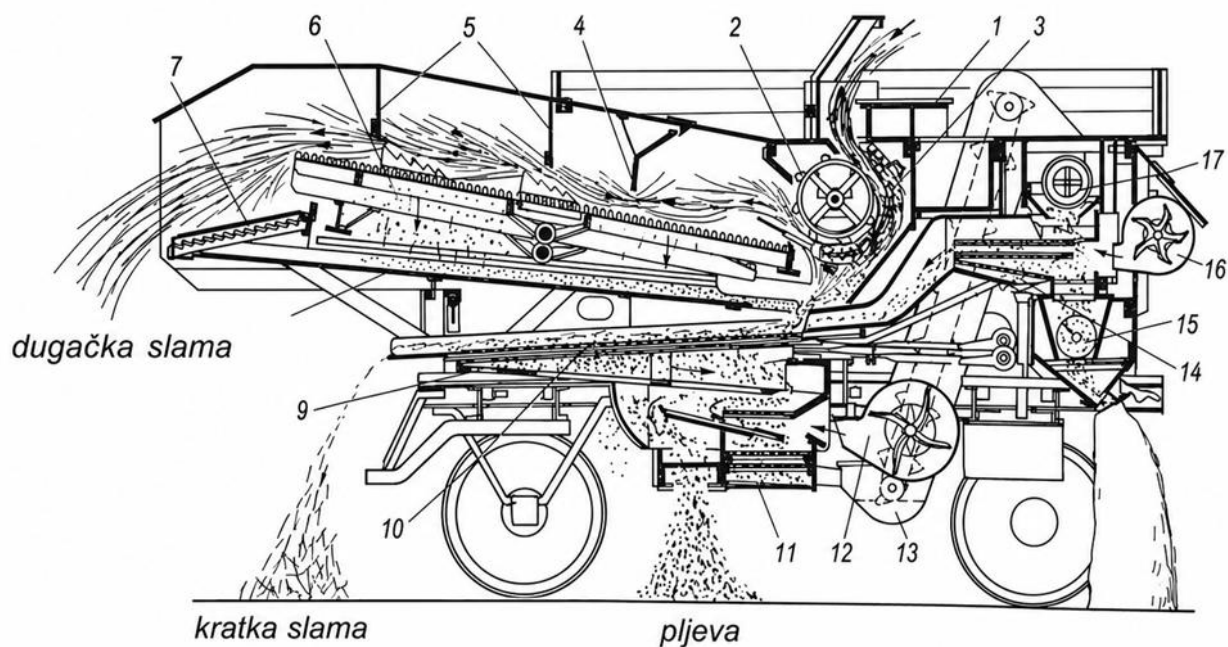


Slika 1S. Prikaz uloge herbicida u smanjenju mogućnosti kontaminacije pšenice sjemenkama korovnih vrsta

Prilog 3. Žetva i tehnologija žetve

Tablica 3S. Usporedba višefazne žetve, stacionarne vršidbe i kombajniranja

Sustav žetve	Glavne faze	Kritične točke	Tehnološka posljedica	Značenje za AA
Višefazna žetva	Košnja srpom/kosom ili mehaničkim kosama; spremanje snopova; prijevoz; vršidba.	Više manipulacija žetvenom masom i slabija standardizacija čišćenja.	Veća ovisnost o naknadnom čišćenju i lokalnim postupcima.	Veća mogućnost zadržavanja korovnih primjesa.
Stacionarne vršalice	Ulaganje snopova; vršidba; odvajanje slame; osnovno čišćenje i sortiranje.	Čistoća ovisi o podešenosti stroja i dodatnim postupcima.	Bolje od ručne vršidbe, ali slabije od integriranog kombajniranja.	Dio primjesa može zaostati u zrnatoj masi.
Kombajniranje	Košnja, vršidba, separacija, čišćenje i skupljanje zrna u jednom prolazu.	Potrebno pravilno podešavanje sita i ventilacije.	Manje manipulacija i bolja kontrola čistoće zrna.	Smanjuje vjerojatnost ulaska sjemenki <i>Aristolochia</i> <i>clematitis</i> u zrno namijenjeno mljevenju.



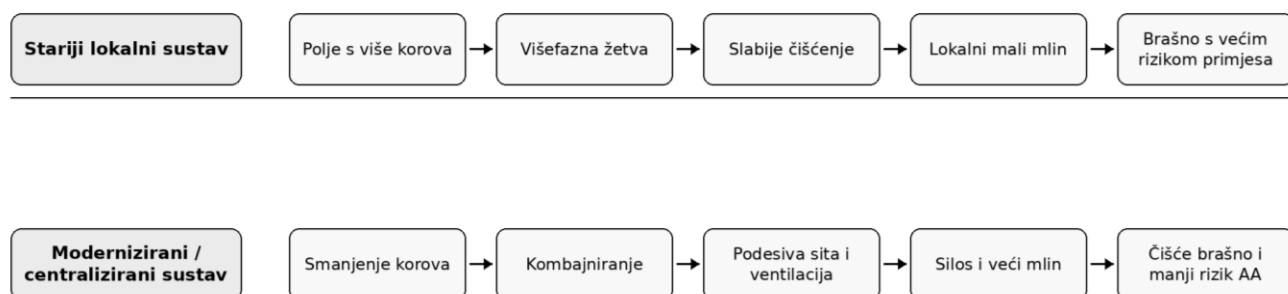
Shema i radni proces vršalice (stacionarne)

- 1 — stol za ulaganje snopova, 2 — bubanj s letvama, 3 — odbojni lim,
- 4 — oblovina, 5 — platna, 6 — istresaljke, 7 — dotresač, 8 — prvi sabirni stol,
- 9 — drugi sabirni stol, 10 — rešeto za kratku slamu, 11 — prvo čišćenje,
- 12 — ventilator, 13 — elevator za zrno sa šalicana, 14 — drugo čišćenje,
- 15 — sortir cilindar, 16 — ventilator drugog čišćenja,
- 17 — čistač osja (entgräner)

Slika 2S. Shematski prikaz konstrukcije i radnog procesa stacionarne vršalice [127]



Slika 3S. Vršidba pšenice vršalicom
Izvor: vlastiti arhiv



Slika 4S. Usporedba starijeg i moderniziranog procesa dobivanja brašna

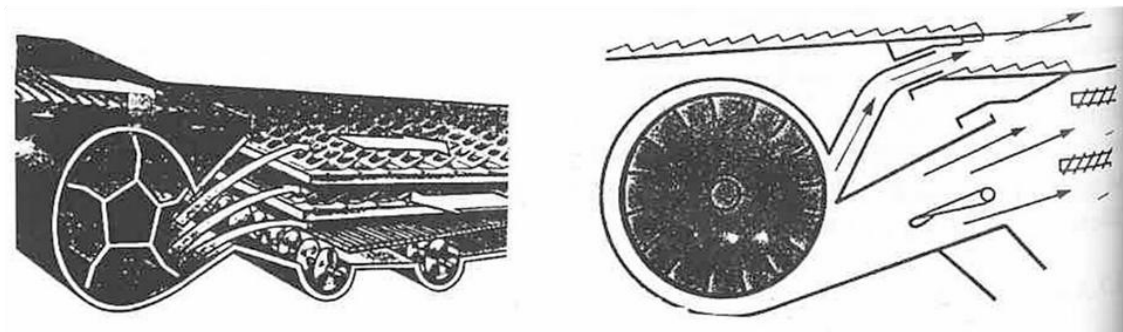
Tablica 4S. Primjer podešavanja rešeta i zasuna ventilatora za različite kulture kod kombajna Đ. Đ. M 1600 Hydromat [142]

Kultura	Gornje sito otvoreno (mm)	Donje sito Ø (mm)	Zasun ventilatora	Opaska	Normalna oprema:
Ječam ozimi	8 – 12	11 – 13	1/2 otvoreno	s blindiranim povremeno blindiranim	gornje sito = lamelasta sita; donje sito = s okruglim otvorima, Ø 9, Ø 11, Ø 13.
Ječam jari	8 – 12	11 – 13	1/2 otvoreno		
Raž	6 – 8	11 – 13	1/2 otvoreno		
Pšenica	6 – 8	9 – 11	1/2 otvoreno		
Zob	6 – 8	11 – 13	1/2 otvoreno		
Grašak	15	18	otvoreno	postaviti posebnu opremu	Posebna oprema: gornje sito = 32 mm, nosasto sito; donje sito = Ø 4, Ø 7, Ø 18; donje sito = lamelasta sita.
Grah	15	18	otvoreno		
Repica	4 – 6	4	1/2 otvoreno		
Trave	4 – 6	4	zatvoreno		
Kukuruz	32 - nosasto rešeto	18	otvoreno		

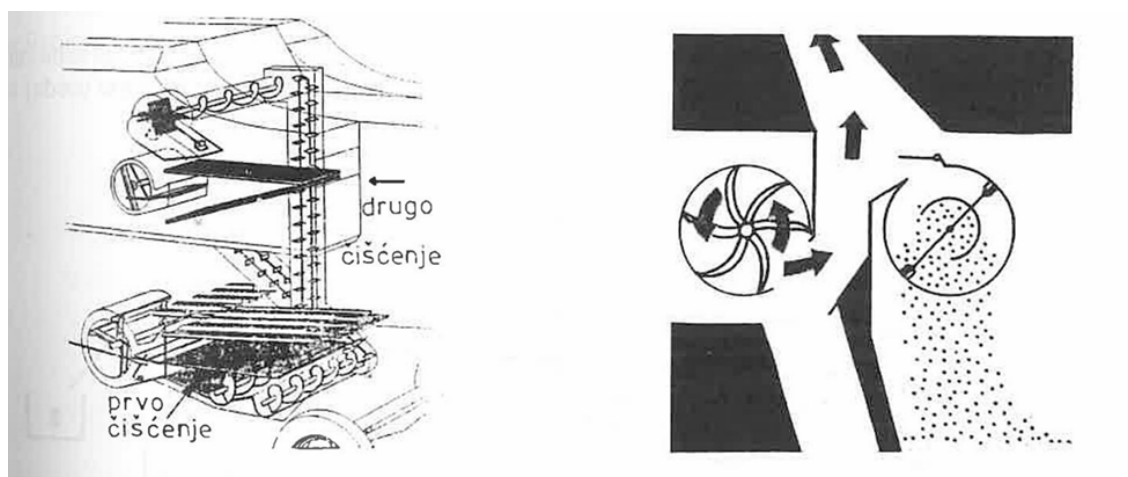
Tablica 4S pokazuje da se postavke sustava za čišćenje prilagođavaju veličini, obliku i masi zrna. Kod strnih žitarica primjenjuju se slične vrijednosti otvora sita i položaja zasuna ventilatora, dok krupnije ili sitnije kulture zahtijevaju drukčije podešavanje i prema potrebi, posebnu opremu. Time se naglašava da učinkovitost separacije ovisi o tehničkom podešavanju stroja i karakteristikama žetvene mase.

Tablica 5S. Tehnički elementi separacije i čišćenja zrna u kombajnim

Tehnički element	Funkcija	Što uklanja ili razdvaja	Značenje za čistoću zrna
Rešetni stan i sita	Razdvajanje prema veličini i obliku čestica.	Krute i sitne frakcije, dio slame, pljeve i sjemenki.	Podesivi otvori omogućuju prilagodbu kulturi i manji udio primjesa.
Ventilator	Aerodinamičko izdvajanje lakših primjesa.	Pljeva, prašina i lakši dijelovi biljne mase.	Poboljšava ravnomjernost čišćenja i smanjuje nečistoće.
Drugo čišćenje / aspiracija	Dodatno odvajanje lakših frakcija nakon prvog čišćenja.	Lakše primjese, dio loma i sitne nečistoće.	Smanjuje udio korovnih sjemenki i ostalih primjesa u konačnoj masi zrna.
Aksijalni i kombinirani sustavi	Dulji put biljne mase i učinkovitije odvajanje zrna od slame.	Zrno od slame, klasa i ostataka biljne mase.	Povećava kapacitet i stabilnost separacije.



Slika 5S. Radijalni tip ventilatora i dvostrujni usmjerivač zraka u kombajnu [142]



Slika 6S. Aspiratorski sustav drugog čišćenja zrna [142]

Prilog 4. Mlinovi i tehnologija mljevenja pšenice: od vodenica do suvremenih mlinova

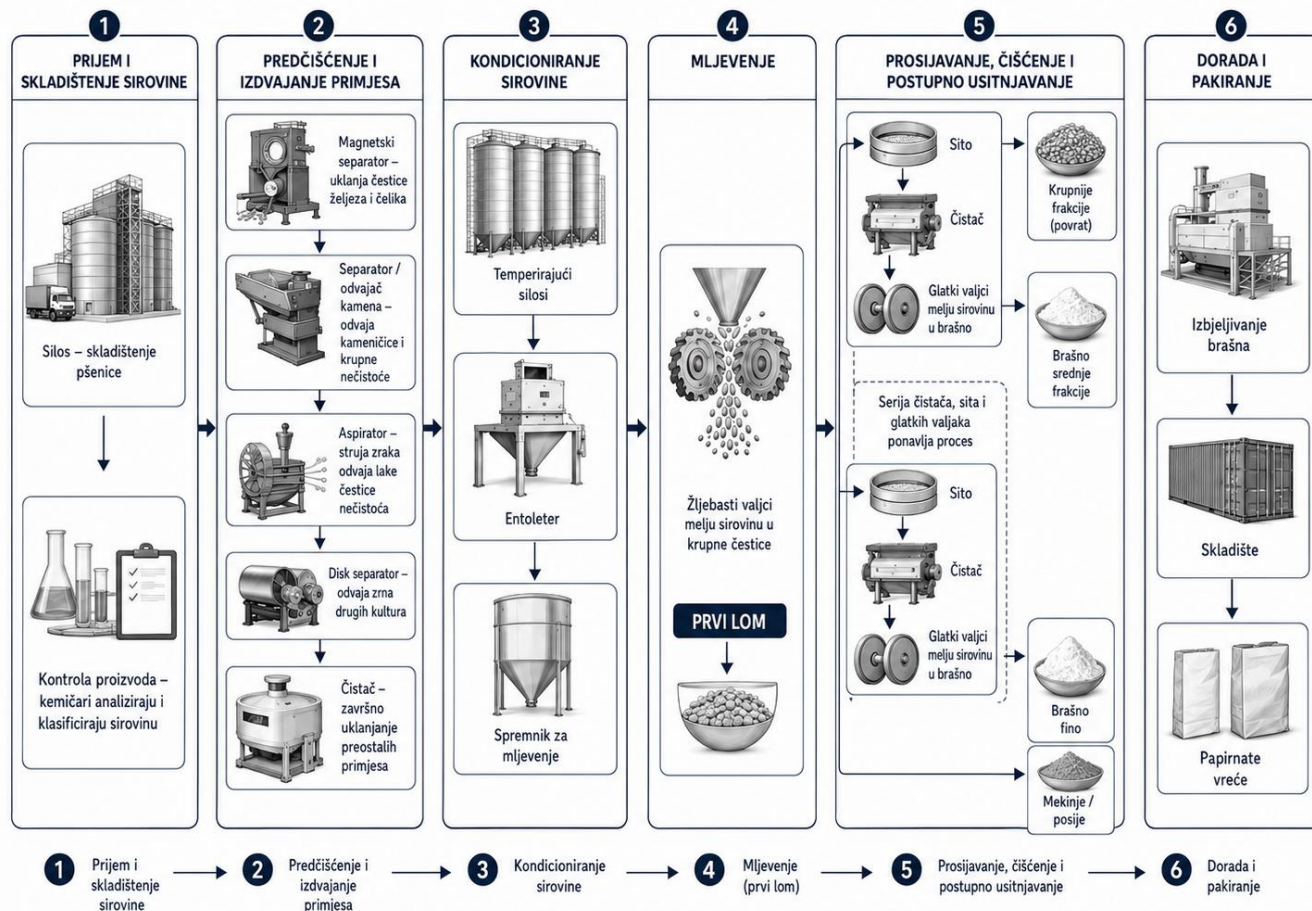
Tablica 6S. Razvoj mlinarske tehnologije i značenje za kontrolu primjese

Tip / razdoblje	Tehnološka obilježja	Razina čišćenja i kontrole	Značenje za temu rada
Ručni i jednostavni oblici mljevenja	Tucanje, ručni mlinovi i mlinsko kamenje.	Ograničena mogućnost prethodnog čišćenja.	Veća ovisnost o čistoći zrna prije mljevenja.
Seoske vodenice i manji mlinovi	Mali kapacitet; lokalna opskrba domaćinstava i manjih pekara; često jednostavna niska meljava.	Čišćenje često izostaje ili se svodi na osnovno rešetanje/trijeranje.	Nečistoće i korovne sjemenke imaju veće izgleda ući u meljavu.
Veći trgovački mlinovi	Organizirani otkup žita, prerada i prodaja gotova brašna.	Bolja organizacija i veći kapacitet.	Postupno slabi isključivo lokalni kućni lanac mljevenja.
Suvremeni valjkasti mlinovi	Postupno mljevenje; valjci; sita; planzihteri; mehanički i pneumatski transport.	Višestupanjsko čišćenje, standardizacija i tipizacija brašna.	Znatno smanjuje mogućnost da se primjese samelju s pšenicom.

Tablica 7S. Usporedba lokalne i centralizirane prerade pšenice

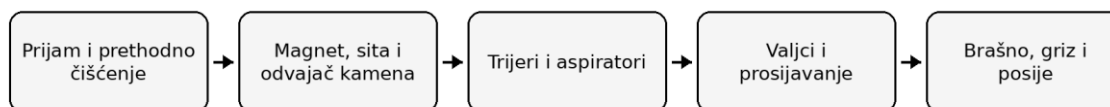
Element lanca	Stariji lokalni sustav	Suvremeniji / centralizirani sustav	Epidemiološko značenje
Skladištenje	Često kućno ili lokalno skladištenje žita.	Silos i organizirani prijam sirovine.	Manji rizik da lokalno kontaminirana masa izravno ide u kruh.
Čišćenje zrna	Nema čišćenja ili samo osnovno rešetanje/trijeranje.	Višefazno čišćenje: sita, magneti, trijeri, aspiracija, odvajač kamena.	Veća mogućnost uklanjanja korovnih sjemenki prije mljevenja.
Mljevenje	Mlinsko kamenje; manje precizna kontrola razmaka i frakcija.	Valjci, planska meljava i prosijavanje.	Smanjuje se prerada neželjenih primjesa zajedno sa zrnom.
Brašno	Prosijavanje često nakon mljevenja ili u kućanstvu.	Tipizacija, miješanje frakcija i standardizacija proizvoda.	Smanjuje se vjerojatnost ponavljane ingestije AA putem kruha.

Prilog 5. Tehnološki postupci u proizvodnji brašna



Slika 7S. Shematski prikaz čišćenja i mljevenja pšenice [224]

Shematski tok suvremenije pripreme i prerade zrna



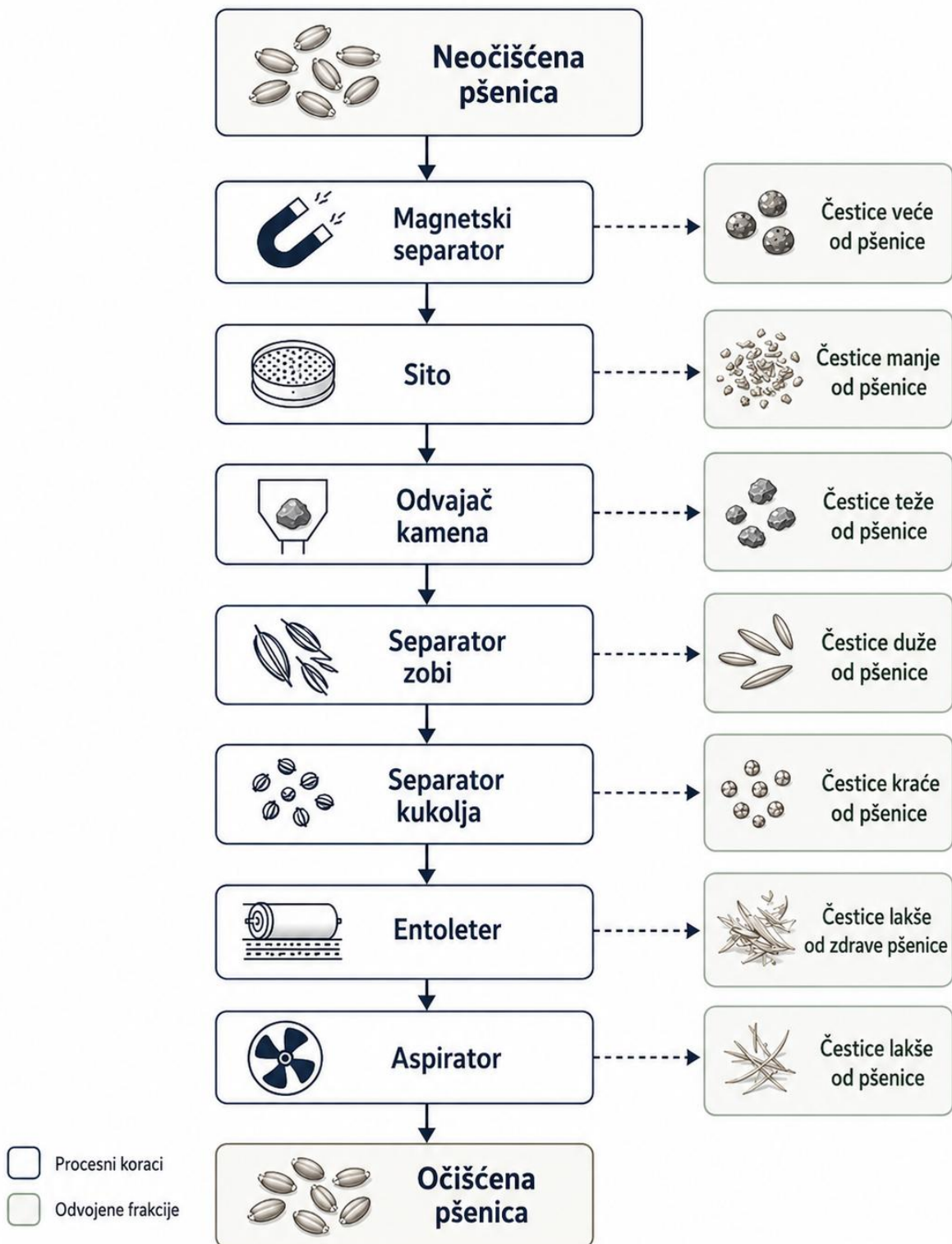
Slika 8S. Sažeti prikaz toka suvremenije pripreme i prerade zrna

Tablica 8S. Kriteriji kvalitete pšenice i vrste primjesa

Kategorija	Opis u tabličnom obliku	Značenje za kakvoću i sigurnost brašna
Pokazatelji kvalitete pšenice	Anatomska i kemijska svojstva zrna, količina nečistoća, udio izlomljenih zrna, sjaj i boja, hektolitarska težina, masa 1000 zrna, zdravstveno stanje.	Sirovina određuje kvalitetu konačnog brašna; nečistoće umanjuju vrijednost i sigurnost.
Bijele primjese	Polomljena i štura zrna, zrna drugih žitarica, proklijala zrna, zrna oštećena štetnicima, smrznuta zrna i zrna s promijenjenom bojom klice.	Smanjuju tehnološku i tržišnu vrijednost pšenice.
Crne primjese	Sjemenke korova, otrovne ili neotrovne, pokvarena zrna, ražena glavica, zrna zaražena glavnicom, pljeva, insekti i dijelovi insekata.	Najvažnije za temu rada jer uključuju korovne sjemenke i potencijalno toksične primjese.
Ukupne primjese	Zbroj bijelih i crnih primjesa.	Mjerilo ukupne čistoće sirovine.
Prvorazredna pšenica	Najmanje 75 kg hektolitarske težine, masa 1000 zrna 38 g i najviše 2 % nečistoća.	Naglašava važnost standarda čistoće u sirovini.

Tablica 9S. Faze čišćenja i mljevenja pšenice

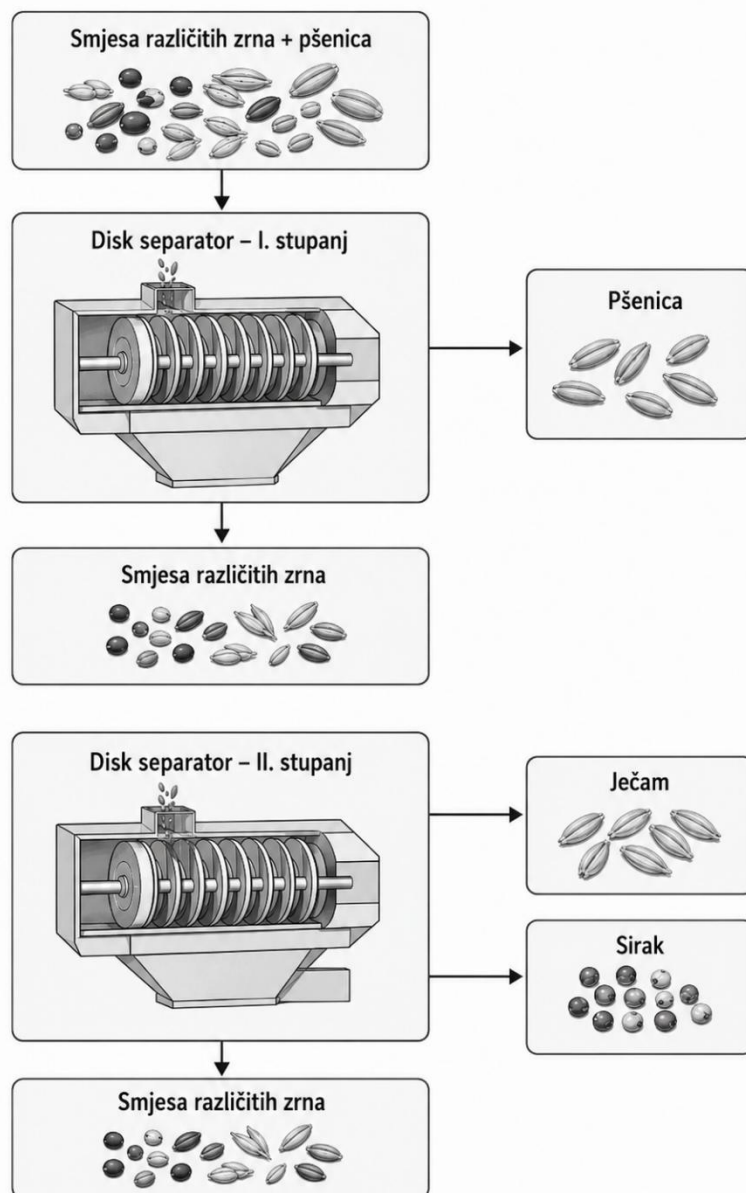
Faza	Postupci i uređaji	Primjese koje se uklanjaju	Značenje za temu rada
Prethodno čišćenje	Rešetanje ravnim ili rotativnim rešetom, vijanje, magneti, trijeri, odvajanje kamenčića i kalibriranje.	Krupnije i lakše nečistoće, metal, kamenčići, zrna različite dužine/oblika.	Smanjuje mogućnost da primjese dospiju u mljevenje.
Glavno čišćenje	Ljušćenje udaranjem, ljušćenje trljanjem, četkanje i vlaženje.	Prašina, plijesni, prijanjajuće nečistoće i dijelovi omotača zrna.	Priprema zrno za učinkovitije izdvajanje čiste brašnaste tvari.
Mokro čišćenje	Rešetanje, vijanje, trijeranje, pranje, centrifugiranje, sušenje i četkanje.	Prašina, kamenčići, pljeva i dijelovi perikarpa.	Učinkovitiji postupak, ali zahtijeva veća ulaganja.
Mljevenje i razdvajanje	Mlinsko kamenje ili valjci; zatim sita, centrifugalna sita, plansihteri i sasaeri.	Odvajanje brašna, griza, posija i različitih frakcija mliva.	Standardizira konačni proizvod i uklanja dio neželjenih frakcija.



Slika 8S. Prikaz čišćenja zrna pšenice [224]

Tablica 10S. Metode i uređaji za izdvajanje primjesa iz zrnate mase

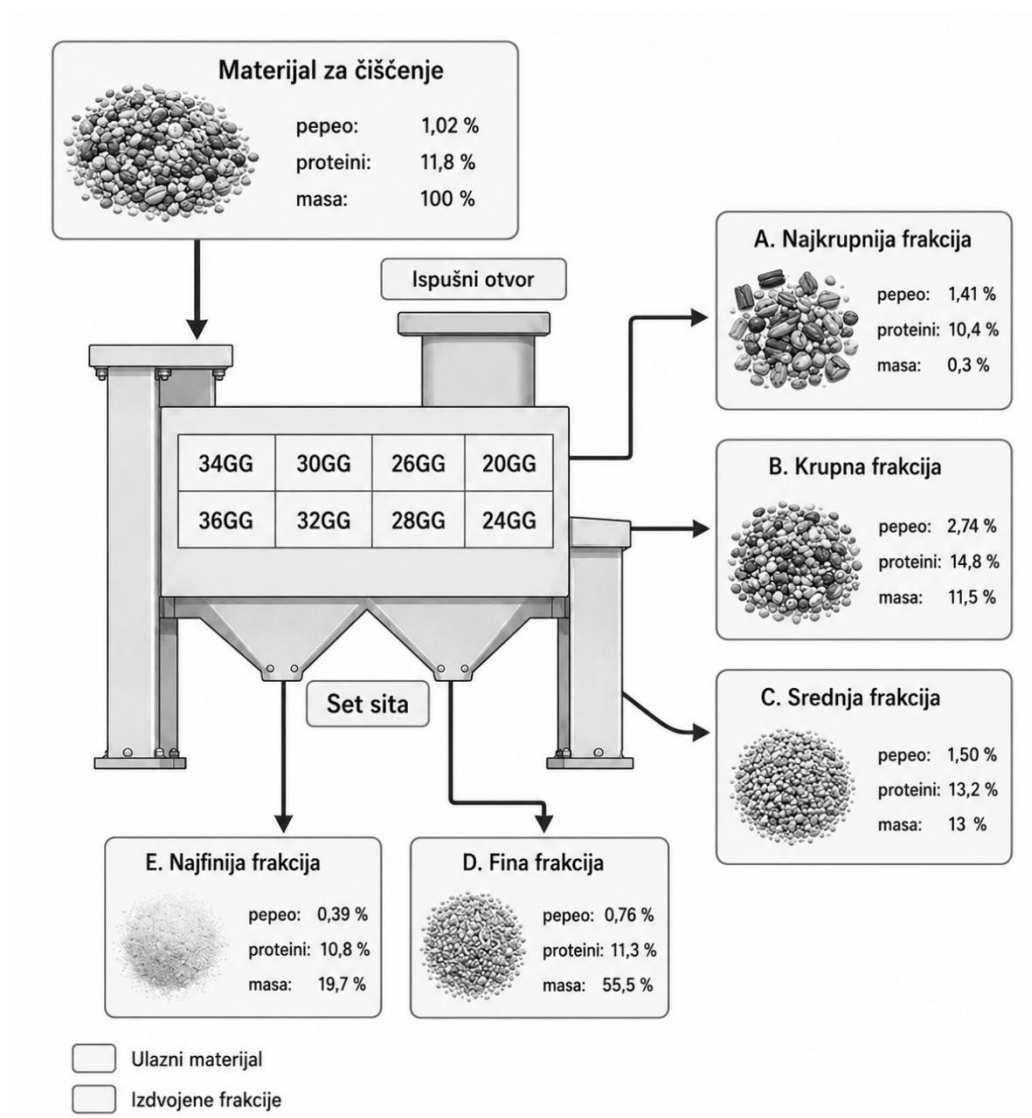
Princip odvajanja	Uređaj / metoda	Što se odvaja	Napomena za interpretaciju
Po veličini	Sita, rešetanje i prosijavanje.	Čestice veće ili manje od pšenice; grube i fine primjese.	Prvi korak u smanjenju heterogenosti zrnate mase.
Po obliku i duljini	Trijeri s bubnjevima i diskovima.	Zrna i sjemenke različite dužine ili oblika.	Važno za izdvajanje primjesa slične mase, ali drukčijeg oblika.
Po aerodinamičkim svojstvima	Aspiratori i ventilacijski sustavi.	Lakše primjese, pljeva i prašina.	Smanjuje udio lakših nečistoća u masi zrna.
Po masi	Odvajač kamena i slični separatori.	Teže čestice slične veličine, primjerice kamenčići.	Štiti opremu i poboljšava čistoću sirovine.
Po boji	Optičko odvajanje / odvajanje pomoću boje.	Čestice drukčije boje od osnovnog zrna.	Suvremeniji način dodatnog poboljšanja čistoće.



Slika 9S. Prikaz odvajanja disk-separator, odnosno trijer s diskovima [224]

Tablica 11S. Sažetak postupaka prosijavanja, ljuštenja i mljevenja

Tema	Tablični sažetak	Značenje
Sita	Pletena sita imaju kvadratne ili pravokutne otvore; bušena sita mogu imati okrugle, duguljaste, zvjezdaste ili trokutaste otvore.	Veličina i oblik otvora određuju koje frakcije prolaze, a koje se zadržavaju.
Prosijavanje	Sipki materijal se odvaja prema krupnoći čestica; učinkovitost ovisi o površini, vlažnosti, specifičnoj masi i pokretljivosti materijala.	Omogućuje postupno razdvajanje frakcija mliva i nečistoća.
Ljuštenje	Zrelo, zdravo i očišćeno zrno obrađuje se u horizontalnim ili vertikalnim ljuštilicama.	Uklanja dio vanjskih slojeva i priprema zrno za daljnju preradu.
Krupljenje	Prvi valjci otvaraju zrno i započinju odvajanje jezgre od omotača.	Cilj je dobiti krupicu uz što manje brašna i ljuskovite prašine.
Razvrstavanje i rastvaranje	Mliv se na sitima dijeli na prijelaz i propad; krupica se zatim usitnjava u brašno željene granulacije.	Omogućuje kontrolu granulacije i tipizaciju brašna.
Maglica	Meljava dobivena kao prijelaz sita tijekom prosijavanja brašna; dalje se pretvara u brašno željene granulacije.	Dio postupnog i višefaznog mljevenja.



Slika 10S. Prikaz prosijavanja i izdvajanja frakcija pomoću sita iz pšenice [224]



Slika 11S. Tradicijski način pečenja kruha u krušnoj peći

Izvor: vlastiti arhiv

Prilog 6. Bioklimatske varijable u diferencijaciji ekološke niše

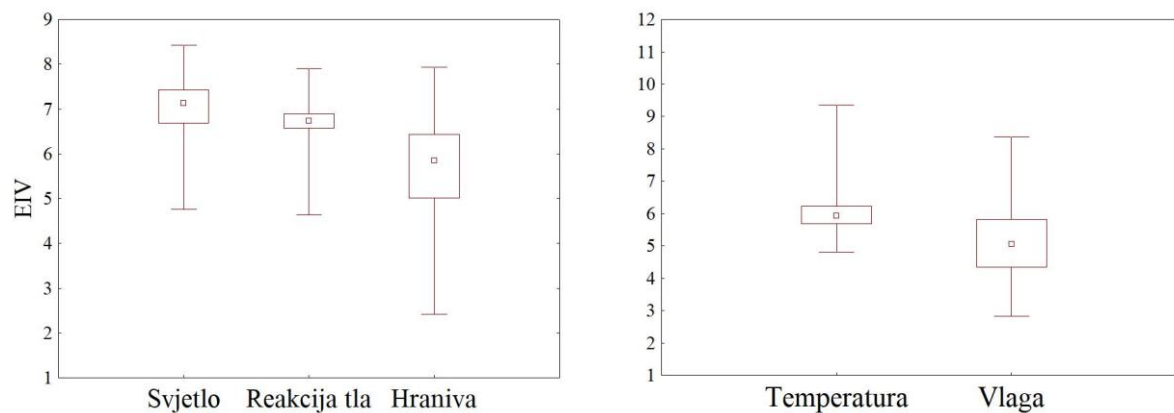
Tablica 12S. Sažetak ekoloških i bioklimatskih nalaza za *Aristolochia clematitis*

Vegetacijski i ekološki nalaz	Tablični sažetak	Tumačenje za ekološku nišu	Značenje za disertaciju
Vegetacijski razredi	Najveći udio nalaza <i>Aristolochia clematitis</i> zabilježen je u razredu <i>Alno glutinosae-Populetea albae</i> (18,4 %), zatim <i>Carpino-Fagetea sylvaticae</i> i <i>Epilobietea angustifolii</i> (po 9,3 %) te <i>Molinio-Arrhenatheretea</i> (8,8 %).	Vrsta se javlja u više vegetacijskih razreda, što govori za širu ekološku amplitudu.	Sama prisutnost biljke nije dovoljna za objašnjenje endemske pojavnosti bolesti.
Temperaturni raspon	Srednja godišnja temperatura u skupu podataka prosječno iznosi 10,8 °C, s rasponom 0,8–18,1 °C.	Obuhvaćen je širok temperaturni raspon staništa.	Podupire tezu da epidemiološki rizik ovisi i o poljoprivredno-tehnološkom lancu, ne samo o biljci.
Oborine	Prosječna godišnja količina oborina iznosi 714,4 kg m ⁻² godišnje, uz raspon 275,7–2233,7.	Biljka se pojavljuje u vrlo različitim oborinskim uvjetima.	Šira ekološka tolerancija objašnjava zašto biljka može biti rasprostranjena izvan endemskih sela.
Ellenbergove vrijednosti	Više vrijednosti svjetla i reakcije tla; širi raspon hraniva i vlage.	Vrsta nije strogo vezana uz samo jedan mikroekološki tip staništa.	Važno za razlikovanje prisutnosti biljke od stvarne izloženosti aristolohičnoj kiselini.

Tablica 13S. Deskriptivni statistički pokazatelji za bioklimatske varijable korištene u ovoj studiji

Varijabla	Aritmetička sredina	SD	Min.	Maks.
Srednja godišnja temperatura zraka °C	10,8	2,7	0,8	18,1
Raspon srednje dnevne temperature zraka °C	8,3	1,4	2,4	11,4
Sezonalnost temperature °C/100	795,5	152,5	470,5	1187,1
Srednja maks. dnevna temperatura zraka najtoplijeg mjeseca °C	26,4	2,4	15,5	33,5
Srednja maks. dnevna temperatura zraka najhladnijeg mjeseca °C	-3,6	4,1	-14,4	7,2
Godišnji raspon temperature zraka °C	30,0	4,3	16,6	39,8
Godišnja količina oborina kg m ⁻² godišnje	714,4	293,3	275,7	2233,7
Količina oborina u najvlažnijem mjesecu kg m ⁻² mjesec ⁻¹	88,5	36,5	29,8	250,2
Količina oborina u najsušem mjesecu kg m ⁻² mjesec ⁻¹	36,1	17,4	6,4	122,2
Sezonalnost oborina kg m ⁻²	26,9	10,8	10,8	85,9

Slika 12S. Ellenbergove indikatorske vrijednosti (EIV) za cijelu ekološku nišu vrste *Aristolochia clematitis* [68]



Na slici 12S prikazani su medijani, interkvartilni rasponi (25–75 %) i ukupni raspon vrijednosti za indikatore svjetla, temperature, kontinentalnosti, vlage, reakcije tla i hraniva.

Prilog 7. Kronologija promjena u tehnologiji žetve, separacije i prerade žita u endemskom kraju tijekom XX. stoljeća



Slika 13S. Kronološki slikovni prikaz ključnih tehnoloških promjena povezanih sa smanjenjem izloženosti AA

Tablica 14S. Kronologija promjena u tehnologiji žetve, separacije i prerade žita u endemskom kraju tijekom XX. stoljeća

Razdoblje	Dominantna praksa	Tehnološka promjena	Značenje za izloženost AA
Do sredine XX. stoljeća	Dvofazna žetva, vršalice, lokalno skladištenje i mali mlinovi.	Ograničena separacija i slabije čišćenje zrna.	Veća mogućnost zaostajanja sjemenki korovnih vrsta u pšenici i brašnu.
1950-e i početak 1960-ih	Zadruge, vršalice, traktori, lokalna meljava i mjenjačnice brašna.	Uvođenje umjetnih gnojiva, herbicida i zadružnih strojnih usluga.	Početak smanjenja korovne mase i postupna promjena lokalnog proizvodnog lanca.
1960-e i 1970-e	Postupno širenje kombajna i suvremenijih sustava čišćenja.	Jednofazna žetva, podesiva sita, ventilacija i bolja separacija.	Manja vjerojatnost ulaska sjemenki <i>Aristolochia clematitis</i> u žetvenu masu.
Druga polovica XX. stoljeća	Gašenje dijela lokalnih mlinova i prijelaz prema većim mlinovima i silosima.	Centraliziranje skladištenje i prerada, standardizacija čišćenja i mljevenja.	Prekid ili slabljenje kućnog lanca kontaminacije brašna.
Kraj XX. i početak XXI. stoljeća	Rjeđe vlastito skladištenje i mljevenje pšenice; veća ovisnost o centraliziranoj preradi.	Suvremeniji mlinovi većeg kapaciteta i bolji postupci pripreme zrna.	Dodatno smanjenje dugotrajne ponavljane ingestije aristolohične kiseline putem kruha.

Tablica 15S. Sažetak točaka prekida mogućega kontaminacijskog lanca

Točka proizvodnog lanca	Stariji rizik	Tehnološko unaprjeđenje	Kako smanjuje rizik izloženosti AA
Polje	Veća brojnost korova, uključujući mogućnost prisutnosti <i>Aristolochia clematitis</i> .	Herbicidi, modernija agrotehnika i bolja obrada tla.	Smanjuje se mogućnost ulaska sjemenki korova u usjev pšenice.
Žetva	Višefazna žetva i više manipulacija požnjevenom masom.	Kombajniranje i integrirana separacija.	Smanjuje se količina primjesa u zrnatoj masi.
Separacija	Ograničena i slabije podesiva oprema.	Podesiva sita, ventilacija, aspiracija i trijeri.	Učinkovitije se uklanjaju čestice različite veličine, mase, oblika i aerodinamičkih svojstava.
Skladištenje	Kućno ili lokalno skladištenje i izravno lokalno mljevenje.	Silos, otkup i organiziranja prerada.	Slabi lokalni kućni lanac kontaminacije.
Mlin	Mali mlinovi s ograničenim čišćenjem.	Suvremeniji valjkasti mlinovi i višefazno čišćenje.	Smanjuje se vjerojatnost da se sjemenke <i>Aristolochia clematitis</i> samelju s pšenicom.
Kruh	Dugotrajna ponavljana konzumacija lokalnog brašna.	Veća ovisnost o centralizirano proizvedenom brašnu.	Dodatno se smanjuje kronična ingestija aristolohične kiseline putem kruha.

ŽIVOTOPIS

Ivan Brzić

Rođen 26. rujna 1981. godine u Slavonskome Brodu. Doktorand na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci s interdisciplinarnim istraživačkim interesom koji povezuje biomedicinske, javnozdravstvene, okolišne i ruralno-razvojne teme.

Obrazovanje

- Poslijediplomski sveučilišni doktorski studij Biomedicina i zdravstvo, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci.
- Sveučilišni specijalistički studij Ekološko oblikovanje krajolika, zaštita prirode i hortikultura, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2008. – 2011.; stečeni akademski naziv: sveučilišni specijalist.
- Sveučilišni diplomski studij šumarstva, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2001. – 2007.; stečeni akademski naziv: magistar inženjer šumarstva.
- Jezici
Služi se engleskim jezikom B2 i njemačkim jezikom B1.

Radno iskustvo

Od 2017. godine obnaša dužnost općinskog načelnika Općine Bebrina, gdje predvodi i organizira razvojne aktivnosti lokalne samouprave i ruralnog područja, osobito kroz pripremu i provedbu infrastrukturnih, socijalnih, turističkih, zdravstvenih, ekoloških i drugih projekata.

Od 2013. do 2017. radio je u Ministarstvu poljoprivrede kao viši stručni savjetnik na upravnim i stručnim poslovima.

U ranijem profesionalnom radu stjecao je iskustvo u području šumarstva, zaštite okoliša, ekologije, hortikulture, obrazovanja i rada na stručnim projektima. Od 2000. do 2011. surađivao je na projektima Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Šumarskog

fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, uključujući istraživanja povezana s Balkanskom nefropatijom.

Znanstvena i stručna djelatnost

Znanstvena i stručna djelatnost usmjerena je na interdisciplinarna istraživanja Balkanske nefropatije, kronične bubrežne bolesti u ruralnim područjima, epidemiologiju bolesti bubrega, okolišne čimbenike rizika te ekologiju i rasprostranjenost vrste *Aristolochia clematitis*. Sudjelovao je u istraživanjima i publikacijama vezanima uz EH-UH 2 i ENAH projekt, ruralnu populaciju, bubrežnu bolest i izloženost aristolohičnoj kiselini. Također je sudjelovao na kongresima iz više područja, te bio član Organizacijskog odbora kongresa „Posve drugačiji kongres KareNemesis – kardio-reno-neuro-metaboličko zdravlje i vaskularno starenje”.

Objavljeni znanstveni i stručni radovi

- Rukavina L, Živčić-Ćosić S, Markić D, Štemberger C, Ljubić J, Rukavina T, Španjol J, Brzić I, Samardžić J, Domislović M, Bašić-Jukić N, Jelaković B. Long-Term Outcome of Kidney Transplant Patients from Rural Farming Areas with Balkan Nephropathy-A Single-Centre Report. *J Clin Med*. 2026;15(7):2558.
- Premužić V, Toupance S, Hollander A, Stipančić Ž, Bukal N, Jelaković A, Brzić I, Čulig B, Slade N, Benetos A, Jelaković B. Longer Telomere Length in Patients with Balkan Endemic Nephropathy Undergoing Chronic Hemodialysis Is Associated with Lower Cardiovascular Mortality. *Kidney360*. 2024;5(12):1871-1880.
- Brzić I, Brener M, Čarni A, Ćušterevska R, Čulig B, Dziuba T, Golub V, Irimia I, Jelaković B, Kavgacı A, Krstivojević Ćuk M, Krstonošić D, Stupar V, Trobonjača Z, Škvorc Ž. Different Ecological Niches of Poisonous *Aristolochia clematitis* in Central and Marginal Distribution Ranges-Another Contribution to a Better Understanding of Balkan Endemic Nephropathy. *Plants*. 2023;12(17):3022.
- Domislović M, Domislović V, Stevanović R, Fuček M, Dika Ž, Karanović S, Kos J, Jelaković A, Premužić V, Leko N, Josipović J, Brzić I, Željšković Vrkić T, Capak K,

- Jelaković B. Chronic kidney disease in rural population [Kronična bubrežna bolest kod seoskog stanovništva]. *Acta Clin Croat.* 2022;61(2):228-238.
- Domislović M, Gellineo L, Jelaković A, Dika Ž, Domislović V, Đapić K, Karanović S, Vuković Brinar I, Bukal N, Abramović Barić M, Brzić I, Jelaković B. Prevalence of incidental chronic kidney disease and patient characteristics - results of the EH-UH 2 study and the ENAH project. *RAD 552. Medical Sciences.* 2022;58-59:42-50.
- Domislović M, Brzić I, Radunović D, Prelević V, Jelaković B. Estimated arterial stiffness and cardiovascular risk in chronic kidney disease - a study protocol. *Rad Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti. Medicinske znanosti.* 2022;553(60-61):34-38.
- Brzić I, Škvorc Ž, Franjić J, Krstonošić D. Ukrasna flora seoskih vrtova Brodsko-posavske županije. *Radovi.* 2019;47(1):45-81.

Kongresna priopćenja i znanstveni skupovi

- Brzić I, Trobonjača Z, Jelaković B. Improvement in agriculture and exposure to aristolochic acid in Balkan endemic nephropathy. 1st Biomedicine and Health PhD Students Congress "Science and Us", University of Rijeka, Faculty of Medicine, Rijeka, 19.-20. svibnja 2022. Postersko priopćenje.
- Hranjec T, Kovač A, Kos J, Dika Ž, Brzić I, Mao W, Chen JJ, Grollman AP, Jelaković B. Dietary exposure to *Aristolochia clematitis* is a risk factor for endemic nephropathy. *Collegium Antropologicum.* 2006;37. Postersko priopćenje/sažetak.
- Član Organizacijskog odbora kongresa „Posve drugačiji kongres KareNemesis - kardio-reno-neuro-metaboličko zdravlje i vaskularno starenje“, Bebrina / Slavonski Brod, 3.-6. srpnja 2025.