

Cijanid - biljke proizvođači i toksični učinci u ljudi

Maleš, Željko; Domijan, Ana-Marija; Gagić, Sanja; Vujčić Bok, Valerija

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2023, 79, 337 - 356**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:334846>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Cijanid – biljke proizvođači i toksični učinci u ljudi

ŽELJAN MALEŠ, ANA-MARIJA DOMIJAN,
SANJA GAGIĆ, VALERIJA VUJČIĆ BOK

Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet,
Zavod za farmaceutsku botaniku, Schrottova 39, 10 000 Zagreb

Uvod

Vodikov cijanid (HCN) je kemijski spoj u plinovitom agregatnom stanju, karakterističnog mirisa badema, poznat široj javnosti kao vrlo opasan toksikant. Otapanjem ovog plina u vodi ($pK_a = 9,24$ pri $25\text{ }^\circ\text{C}$) nastaje cijanovodična kiselina koja reakcijama s lužinama alkalijskih i zemnoalkalijskih metala može tvoriti također otrovne soli, cijanide (1). Naziv 'cijanid' se obično odnosi i na nedisocirani oblik vodikovog cijanida (HCN) i na anion koji nastaje disocijacijom (CN^-). Cijanid je toksikant koji nastaje izgaranjem mnogih tvari, te predstavlja industrijski i profesionalni rizik. Čovjek najčešće dolazi u kontakt s cijanidom upravo iz industrijskih izvora. Cijanid se primjenjuje u mnogim kemijskim sintezama, obradi plastike i gume, ekstrakciji zlata i srebra, štavljenju, metalurgiji, fotografiji i fumigaciji pesticida i rodenticida. Do trovanja može doći i nakon kontaminacije kože otopinom cijanida ili udisanja oslobođenog HCN-a tijekom galvanizacije u poliranju nakita (2). Budući da ovaj otrov postoji u plinovitom, tekućem i krutom obliku, može izazvati toksičnost kod ljudi svim putevima unosa uključujući udisanje, gutanje, parenteralnu primjenu te dermalni kontakt ili kontakt preko očiju (3). Oralna apsorpcija cijanida je brza, a toksični učinci mogu nastupiti unutar nekoliko minuta. Kada se soli cijanida progutaju, klorovodična kiselina u želucu uzrokuje oslobađanje HCN, koji se lako apsorbira kao cijanidni ion (2). Cijanid je jedan od najbrže djelujućih otrova i može izazvati smrt unutar nekoliko sekundi ili minuta do sati nakon izlaganja, a ovisno o dozi, putu unosa i duljini izlaganja (3).

Cijanid je poznat još iz vremena antike. Iako tada nije bila poznata kemijska struktura ovog spoja, ljudi su itekako bili upoznati s njegovim smrtonosnim djelovanjem. Godine 1782. švedski kemičar Carl Wilhelm Scheele otkrio je

zapaljiv, u vodi topivi plin, kasnije identificiran kao HCN. Plin je generirao zagrijavajući tamnoplavi pigment zvan „Prussian blue“ (oksidirane željezove cijanoferatne soli) u vodenoj otopini sulfatne kiseline. Isti plin izazvao je smrt Scheelea četiri godine kasnije. Riječ „cyanine“ ili „cyanide“ dolazi iz grčkog jezika od riječi „kynos“ što znači plav te se uskoro počela koristiti kao naziv za ovu plinovitu molekulu. Francuski fizičar i kemičar Joseph Louis Gay-Lussac je 1811. otkrio da se molekula cijanida sastoji od po jednog atoma ugljika, vodika i dušika te da su ugljik i dušik povezani trostrukom kovalentnom vezom, dok je kovalentna veza između vodika i ugljika jednostruka (slika 1.). On je HCN-u dao naziv hidrocijanska kiselina ili vodikov cijanid (4).



Slika 1. ► Kemijska struktura vodikovog cijanida.

Cijanidne molekule sadrže cijano-skupinu koja se sastoji od atoma ugljika i atoma dušika povezanih trostrukom kovalentnom vezom (slika 1.), te mogu biti anorganske ili organske. U anorganske molekule ubrajaju se soli nastale reakcijom cijanidnog aniona s različitim metalima: natrijev cijanid (NaCN), kalijev cijanid (KCN) i kompleksnije krutine poput željezovog heksacijanoferata ($\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$). U organocijanidne molekule pripadaju spojevi kao što su acetonitril, akrilonitril i cijanogeni heterozidi (glikozidi) (4).

Molekule koje sadrže CN skupinu često se pojavljuju u prirodi. Četiri najčešća atoma koji čine život na Zemlji su ugljik, vodik, dušik i kisik, a molekula HCN-a je sastavljena od čak tri spomenuta esencijalna atoma. Cijanid je igrao ključnu ulogu u prebiotskom razvoju aminokiselina, peptida, nukleotida, lipida i membrana te nastavlja biti integralni dio svijeta oko nas.

HCN je prisutan u svemiru, zemljinoj atmosferi, biljkama, životinjama, mikroorganizmima i gljivama. Mnogim istraživanjima dokazano je da cijanid sudjeluje u mikrociklusima u okolišu. Glavni protagonisti tih ciklusa su cijanogeni organizmi koji asimiliraju cijanid kao izvor dušika i ugljika ili kako bi odbili napade herbivora i patogena. Danas je prisutnost cijanogenih molekula dokazana u više od 3000 biljaka, životinja, mikroorganizama i gljiva (4). Osim industrijskih izvora, ljudi najčešće dolaze u kontakt s cijanidom putem potrošnje određenih biljnih vrsta. Cijanid se u biljnim staničjima oslobađa kao nusproizvod sinteze etilena (5) i metabolizma dušika (6) te nastaje kao rezultat hidrolize cijanogenih spojeva (7).

Cijanogeneza u biljkama

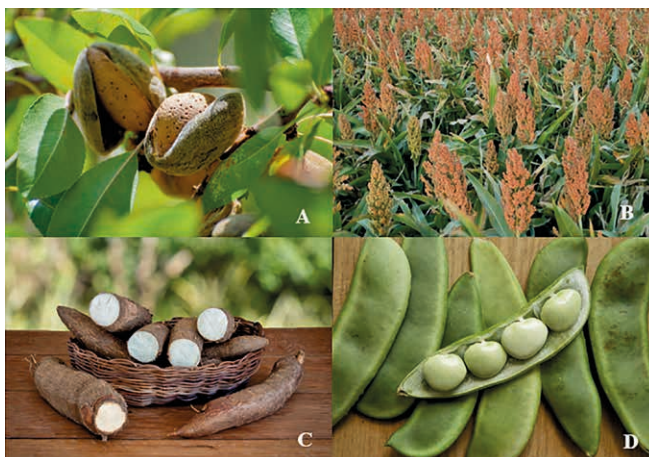
Cijanogeneza je proces poznat već nekoliko stoljeća, ponajprije zbog toga što se odvija u nekim biljnim vrstama koje se primjenjuju u ljudskoj prehrani (marelice,

breskve, bademi itd.). Biljke u kojima se odvija ovaj proces obično sadrže prethodnike koji ulaze u proces hidrolize čiji je produkt HCN. U porodici sapindovke (lat. Sapindaceae) kao prethodnici proizvodnje cijanida rabe se cijanogeni lipidi (8). Ipak, mnogo je češći slučaj da se kao prethodnici primjenjuju cijanogeni glikozidi.

Cijanogeni glikozidi mogu se kemijski definirati kao β -glikozidi α -hidroksinitrila te se svrstavaju kao sekundarni biljni metaboliti. Biosinteza cijanogenih glikozida obično započinje sa sljedećim aminokiselinama: L-valin, L-isoleucin, L-leucin, L-fenilalanin i L-tirozin. Drugi identificirani prethodnici su nikotinska kiselina i 2-2'-ciklopentenil glicin. Svi koraci biosinteze, osim konačne glikozilacije α -hidroksinitrila katalizirani su enzimima vezanim na membranu (7). Prethodnik za sintezu cijanogenih lipida je uvijek leucin, gdje se glukoza zamjeni s masnom kiselinom različite duljine lanca i stupnja saturacije (8). Da cijanovodik nastaje njihovom hidrolizom prvi je 1802. dokazao Scrade izoliravši ga iz sjemenki gorkog badema i listova breskve. Enzimskom hidrolizom cijanogenih glikozida nastaje aglikon (α -hidroksinitril) i šećerni ostatak. Aglikoni mogu biti alifatski ili aromatski spojevi a šećer je uglavnom D-glukoza (7).

Poznato je oko 25 cijanogenih glikozida. Oni poznatiji sadržani su u dijelovima jestivih biljaka (slika 2.); amigdalinalin (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb – badem, koštunjčavo voće), durin (*Sorghum bicolor* L. Moench – sirak), linamarin (*Manihot esculenta* Crantz – kasava, *Phaseolus lunatus* L. – lima grah, *Linum usitatissimum* L. – lan, *Spinacia oleracea* L. – špinat) linustatin (kasava, lan), lotaustralin (kasava, lima grah), prunasin (koštunjčavo voće) i taksifilin (*Bambusa vulgaris* Schrad. ex Wendl – bambus) (9).

Slika 2. ► Biljke bogate cijanogenim glikozidima:
A – badem (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb) (10),
B – sirak (*Sorghum bicolor* L. Moench) (11), C – kasava (*Manihot esculenta* Crantz) (12), D – lima grah (*Phaseolus lunatus* L.) (13).



Sadržaj cijanogenih glikozida u biljkama može biti promjenljiv u ovisnosti o nekoliko čimbenika. Cijanogene biljke iz različitih porodica sadržavat će različite količine cijanogenih glikozida. Biljke koje pripadaju istoj porodici također mogu sadržavati različite količine cijanogenih glikozida, a neke mogu čak biti u potpunosti acijanogene. Isto vrijedi za različite biljne organe i staničja. Promjenljiv sadržaj HCN ili cijanogenih glikozida rezultat su više čimbenika kao što su kvaliteta tla, starost ili životni stadij u kojem je biljka uzorkovana, fiziološki status biljke (izloženost abiotičkim stresovima) te metodologija uzorkovanja i analize (7).

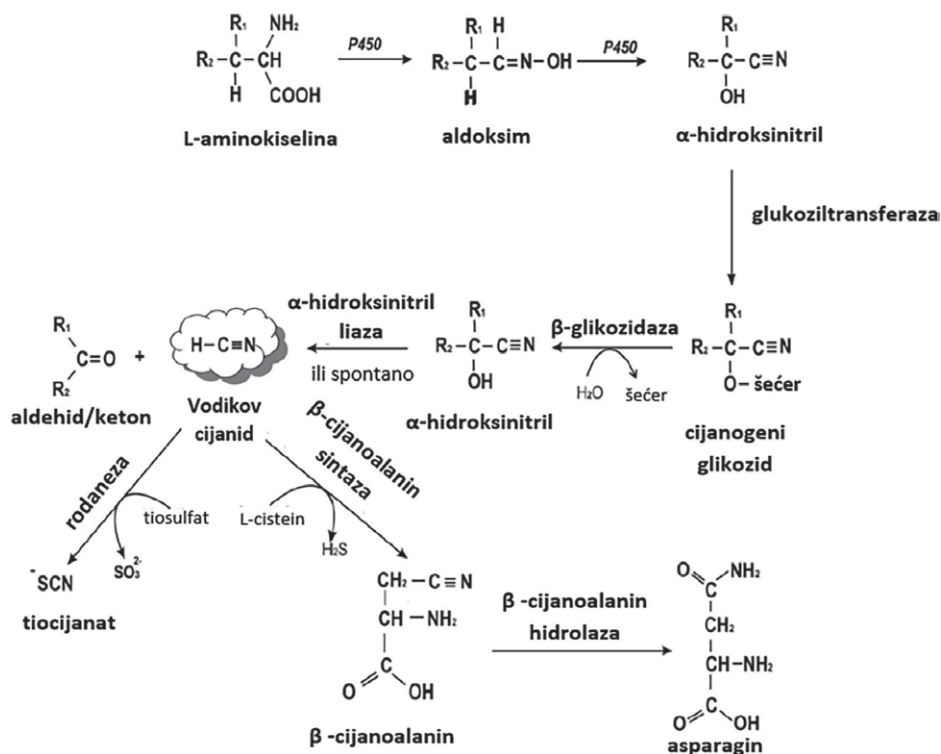
Degradacija cijanogenih glikozida u biljaka potaknuta je puknućem glikozidne veze/a s jednom ili više topivih β -glikozidaza. Tim procesom nastaju nestabilni cijanhidrini koji se razgrađuju spontano ili enzimatski, u reakciji kataliziranoj α -hidroksinitril lijazom. Krajnji rezultat ovih reakcija je HCN te aldehid ili keton. U neoštećenim biljkama supstrati i hidrolitički enzimi su u odvojenim odjeljcima ili u staničju ili na substancičnoj razini (5), što znači da se cijanid ne stvara stalno u staničjima cijanogenih biljaka. Obično su cijanoglikozidi pohranjeni u vakuolama dok su β -glikozidaze apoplastne (5). Kada se staničje ošteti (npr. napad herbivora) glikozidi, β -glikozidaze te hidroksinitrilne lijaze stupaju u kontakt što oslobađa toksični HCN (5).

Suprotno procesima koji uključuju ozljede biljnog staničja, mnogi biljni cijanoglikozidi su također metabolizirani u intaktnim stanicama i transportirani u biljkama. Proces se može promatrati u sjemenci koja klije. Većina cijanogena je spremljena u endospermu i prenosi se u kotiledone i primarne listiće te metabolizira u necijanogene tvari koje sadrže dušik. HCN se također oslobađa iz cijanogenih glikozida tijekom prekida dormancije (rane faze hladne stratifikacije) sjemenki (primjer stratifikacija sjemenki jabuke) (5). U ovom slučaju mogu biti proizvedene relativno velike količine slobodnog HCN-a kao rezultat oštećenja tonoplasta u procesu rehidracije, što omogućava direktan kontakt citoplazmatске glikozidaze s vakuolarnim cijanogenom – amigdalinom. Također, nije isključeno da cijanogeni glikozidi mogu biti metabolizirani u nekom drugom razvojnom stadiju određenih cijanogenih biljaka te se i tad oslobađa slobodni cijanid (5).

Cijanogeneza nije karakteristična samo za vrste koje sadrže cijanolipidne i cijanogene glikozide. Cijanid može biti i koprodukt biosinteze etilena, gdje je proizveden u stehiometrijski jednakim količinama kao i etilen (14). Cijanid se također može sintetizirati u biljnim staničjima od glioksilata, produkta fotorespiracije, i hidrosilamina, međuprodukta asimilacije nitrata (6).

Potencijalno postojanje nekoliko izvora cijanida u biljkama podupire pretpostavku da je ova plinovita molekula prisutna u gotovo svim biljnim staničjima i da pridonosi kontroli brojnih važnih fizioloških procesa.

HCN može igrati dvostruku ulogu u biljkama, ovisno o njegovoj koncentraciji. Može se primjenjivati u obrani od predatora pri visokoj otrovnoj koncentraciji i može imati regulatornu funkciju pri nižim koncentracijama. Posebna pozornost posvećena je djelovanju HCN tijekom biotičkih i abiotičkih stresova, asimilacije nitrata i klijanju sjemenaka. Unutarstanični signalni odgovori na HCN uključuju pojačano stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) te ekspresiju alternativne oksidaze neosjetljive na cijanid (AOX) i gena ACC sintaze (ACS).



Slika 3. ► Biosinteza i katabolizam cijanogenih glikozida. Preuzeto i prilagođeno iz (5).

Učinci cijanida u ljudskom organizmu

Oralna apsorpcija cijanida je brza, a toksični učinci mogu se pojaviti u roku od nekoliko minuta. Kada se soli cijanida progutaju, klorovodična kiselina u želucu uzrokuje oslobađanje HCN, koji se lako apsorbira kao cijanidni ion (CN⁻). HCN

je molekula dobro topiva i u lipidima i u vodi. Brzo se apsorbira bez obzira na način izlaganja zbog svoje niske molarne mase (15). Uglavnom se apsorbira kroz respiratornu i gastrointestinalnu sluznicu te kroz kožu i oči pri dugotrajnom kontaktu (16). Dermalna izloženost je rijetka, ali zbog velike površine kože moguće je da tijelo i tim putem apsorbira dovoljnu količinu otrova te da se pojave simptomi trovanja. Nitrili se lakše apsorbiraju dermalnim putem, ali je pojava simptoma odgođena (2). Što se tiče cijanogenih glikozida, za njihovu razgradnju su odgovorne endogene β -glikozidaze ako se oštećuje biljno staničje ili bakterijske β -glikozidaze u debelom crijevu ako se cijanogeni biljni materijal proguta (9).

Nakon apsorpcije, raspodjela je brza i nakon jedne intravenske doze završava unutar 5 minuta (2). Cijanid se brzo krvlju prenosi po tijelu. Oko 60 % se veže na proteine plazme, mala količina prisutna je u eritrocitima, a ostatak je prisutan kao slobodni cijanid. Nakon trovanja oralnim putem, značajna količina cijanida uočena je u mozgu, krvi, bubrezima, stijenci želuca, jetri i urinu, što ukazuje da je nakon apsorpcije cijanid široko rasprostranjen u svim tkivima (16).

Cijanid se kod sisavaca brzo detoksicira. Proces kojim se najviše cijanida detoksicira (otprilike 80 %) je enzimatska transulfuracija cijanida u tiocijanat (SCN), koji je netoksičan i izlučuje se mokraćom. Ovu reakciju katalizira enzim rodanaza (tiosulfat cijanid sumpor transferaza). Za djelovanje rodanaze potreban je izvor sulfanskog sumpora (dvovalentni ionizirani sumpor vezan na drugi atom sumpora) poput tiosulfata. Endogena koncentracija tiosulfata je vrlo ograničena, stoga detoksikacija cijanida u velikoj mjeri ovisi o egzogenom unosu tiosulfata (2). Međutim, detoksikacija cijanida ovim putem često je tema rasprava jer je rodanaza smještena u mitohondrijima, a tiosulfat jako sporo prelazi staničnu i mitohondrijsku membranu. Pretpostavlja se da se sulfanski sumpor prvo veže na serumski albumin te nastaje sulfan-sumporni albuminski kompleks koji na kraju reagira s cijanidom i tvori tiocijanat (17). U fiziološkim uvjetima se metabolizam cijanida odvija preko serumskog albumin-sulfanskog kompleksa koji je primarni detoksikacijski mehanizam (2). Mala količina cijanida izlučuje se urinom i disanjem u različitim oblicima: ugrađen u cijanokobalamin (vitamin B12), oksidiran u mravlju kiselinu i ugljikov dioksid ili inkorporiran s cistinom (2). Drugi manji putevi detoksikacije uključuju enzime poput merkaptopiruvat sumportransferaze, tiosulfat reduktaze i cistationaza γ -liaze, a u oblicima disulfid cistina, 2-iminotiazolidin-4-karboksilne kiseline (2-ICA) ili njezinog tautomera, 2-aminotiazolidin-4-karboksilne kiseline (2-ACA) (18). Cijanid reagira s cistinom te nastaje β -tiocijanoalanin, koji spontano stvara prstenastu strukturu 2-ICA ili 2-ACA, ovisno o pH u stanicama (slika 3.).

Toksični učinak cijanida uglavnom se pripisuje stvaranju anoksije nakon inhibicije enzima koji sadrže atome metala. Čini se da je kritična interakcija inhibicija terminalnog enzima respiratornog lanca, citokrom oksidaze a_3 (sadrži željezo) unutar mitohondrija. Enzim je neophodan za proizvodnju adenozin-trifosfata (ATP). Kao rezultat, aerobni oksidativni metabolizam i fosforilacija su poremećeni što dovodi do stanične hipoksije. Piruvat koji se proizvodi ne može se dalje koristiti i reducira se u laktat. Promjena iz aerobnog u anaerobni metabolizam dovodi do laktoacidoze. Budući da HCN ima alkalni pKa, uvjeti acidoze pogoduju postojanju cijanida u neioniziranom obliku, koji može lakše prijeći stanične membrane, dodatno pogoršavajući toksičnost, pogotovo srca i središnjeg živčanog sustava (19). Ljudsko tijelo je razvilo ograničene metode za samozaštitu i izlučivanje cijanida. Nedavna istraživanja pokazuju da mitohondriji mogu proizvoditi NO, koji nekompetitivno zauzima mjesta vezanja željeza u citokromu aa_3 i tako ih štiti od djelovanja cijanida, i zbog toga predstavlja endogeni protuotrov za cijanide (19). Još jedan endogeni zaštitni mehanizam je prethodno spomenuto djelovanje enzima rodanaze.

Iako je inhibicija enzima citokrom oksidaze primarni uzrok toksičnog učinka na organizam, ovo nije jedini put kojim cijanid narušava fiziološko funkcioniranje stanica. Osim navedenog, cijanid reagira s još nekoliko metaloenzima te s karbonilnim skupinama različitih enzima, koenzima i supstrata, što dovodi do narušavanja njihove normalne aktivnosti. Cijanid također ulazi u interakcije sa sulfhidrilnim spojevima cistina, merkaptopiruvata, reduciranog glutationa i oksidiranog glutationa te stvara različite komplekse (17). Snažno reagira sa željezom i u drugim proteinskim molekulama, uključujući inhibiciju enzima karboanhidraze i sukcinat dehidrogenaze. Interakcijom cijanida s feri željezom u hemoglobinu dolazi do stvaranja cijanomethemoglobina koji nema sposobnost prenositi kisik (17).

Toksičnost cijanida često je povezana s povišenim razinama staničnog kalcija, inhibicijom antioksidativnih obrambenih enzima u mozgu i stvaranjem reaktivnih kisikovih spojeva, što dovodi do peroksidacije lipida (20). Cijanid povećava koncentraciju staničnog kalcija putem aktivacije naponski osjetljivih kalcijevih kanala, izravnom redoks modulacijom i povećanjem osjetljivosti receptora *N*-metil-*D*-aspartata (NMDA) i mobilizacijom intracelularnih zaliha kalcija (21). Povišeni citosolni kalcij aktivira proteaze, koje pretvaraju ksantin dehidrogenazu u ksantin oksidazu. U prisutnosti kisika, ksantin oksidaza može katalizirati stvaranje superoksidnih radikala koji iniciraju peroksidaciju lipida. Modulacija NMDA receptora naširoko je uključena u neurotoksičnost izazvanu cijanidom. Cijanid može stimulirati oslobađanje glutamata iz unutarstaničnih

zaliha što rezultira povećanjem koncentracije citosolnog Ca^{2+} kroz aktivaciju NMDA receptora. Također postoje dokazi da cijanid može djelovati izravno s NMDA receptorom kako bi se pojačao priljev Ca^{2+} posredovan NMDA receptorom (21). To nadalje pokazuje da cijanid selektivno ulazi u interakciju s podjedinicama ovog receptora, moguće stvaranjem tiocijanatnog adukta s cisteinskim ostatkom koji se nalazi u NR1 podjedinici (22).

Već spomenuta reakcija cijanida s cistinom u kojoj nastaju 2-ICA i 2-ACA odgovorna je za simptome gubitka pamćenja, konvulzije i gubitak svijesti. Cijanid može prouzrokovati dopaminergičku toksičnost karakteriziranu gubitkom dopaminergičkih neurona u bazalnim ganglijima što rezultira oštećenjem motoričke funkcije. Također je poznato da cijanid u središnjem i perifernom živčanom sustavu stimulira otpuštanje neurotransmitera (2). Pretpostavlja se da su konvulzivni učinci cijanida posljedica promjena u razinama dopamina. I protein kinaza C, kalmodulin i dušik-ovisan ciklički guanozin monofosfat (GMP) mogu pridonijeti izazivanju konvulzija. Smanjenje količine ATP-a također može djelomično pridonijeti razvoju konvulzija izazvanih cijanidom. Još neki od biokemijskih procesa koji mogu posredovati ili barem djelomično utjecati na toksičnost izazvanu cijanidom su ribozilacija mitohondrijskog ADP-a i hiperamonijemija (2).

Dijagnoza i klinička obilježja trovanja cijanidom

Znakovi i simptomi akutnog trovanja cijanidom su često nespecifični i variraju s obzirom na vrijeme i dozu kojoj je bolesnik izložen (23). Niske koncentracije mogu uzrokovati odgođene i razne nespecifične simptome poput glavobolje, vrtoglavice, mučnine, povraćanja, smetenosti, kome i inkontinencije izmeta i urina, a izloženost visokim koncentracijama može dovesti do niza događaja poput dispneje, nekoordinacije pokreta, konvulzivnih napadaja, kome i srčanog i/ili respiratornog zatajenja koje kulminira smrću (17). Vjerojatno najraširenije patološko stanje koje se pripisuje kroničnom trovanju cijanidom je tropska ataksična neuropatija (TAN) koja se javlja nakon primjene kasave. Ostali učinci povezani s primjenom cijanogenih biljaka uključuju tropski pankreatitis i endemsku strumu (2, 24).

Ponavljani ili produljeni kontakt kože s niskim koncentracijama prašine kalijevog cijanida može dovesti do dermatoloških simptoma (cijanidni osip) karakteriziranih svrbežom i kožnim čvorićima. Znakovi i simptomi trovanja cijanidom dobro su dokumentirani, više od 55 znakova i šest biokemijskih procesa povezano je s trovanjem cijanidom. Općenito, simptomi, kao što su metabolička acidoza, koma, šok, konvulzije, bradikardija, nisu specifični, ali ako je

bolesnik iznenadno izgubio svijest i ne reagira na terapiju kisikom, treba posumnjati na izloženost cijanidu. Laboratorijski testovi za dijagnozu trovanja cijanidom uključuju analizu zasićenosti hemoglobina (prije terapije kisikom), laktacidozu (blokirana oksidativna fosforilacija) i hiperglikemiju (toksični učinci na β -stanice gušterače) (25). Znakovi i simptomi koreliraju s koncentracijom cijanida u krvi (tablica 1.). Nalazi laboratorijskih analiza koji potvrđuju intoksikaciju cijanidom su: metabolička acidoza uz normalan pO_2 , povišena anionska praznina elektrolita u serumu, povišen centralni venski udio zasićenja O_2 i smanjen postotak zasićenja arterijskog O_2 . Određivanje cijanida u punoj krvi, urinu, želučanom sadržaju i tkivu te razine tiocijanata u plazmi također su važni za potvrdu trovanja. Nažalost, za ove analize potrebno je nekoliko sati i rezultati možda neće biti dostupni kliničaru tijekom akutne faze zbrinjavanja otrovanog bolesnika. Obično se koristi Lee-Jonesov brzi test koji može kvalitativno otkriti cijanid u želučanom sadržaju, ali može dati i lažno pozitivne rezultate s brojnim lijekovima (4).

Tablica 1. ► Znakovi i simptomi trovanja cijanidom u ovisnosti o koncentraciji kojoj je žrtva izložena. Prilagođeno prema (4).

Koncentracija cijanida u punoj krvi		Znakovi i simptomi
$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{mol/L}$	
0 – 0,5	8 – 20	Nema simptoma
0,5 – 1,0	20 – 38	Tahikardija, glavobolja, hiperpneja, vrtoglavica, osip
1,0 – 2,5	38 – 95	Mučnina, povraćanje, tahipneja, nesvjestica, gušenje
2,5 – 3,0	95 – 114	Problemi s disanjem, koma, konvulzije, cijanoza, apneja, raširene zjenice
$\geq 3,0$	114	Smrt

U krajevima svijeta gdje su biljke koje sadrže cijanogene glikozide velikim dijelom zastupljene u prehrani (Afrika, Južna Amerika) ljudi bivaju izloženi subletalnim dozama cijanida kroz dulji vremenski period uslijed nepravilne ili nedovoljne obrade korištenog biljnog materijala. Također, u postrojenjima za proizvodnju i preradu namirnica cijanid koji se oslobađa iz biljaka prelazi u plinoviti oblik te su zaposleni izloženi cijanidu putem inhalacija, kontaktom preko kože te moguće i oralnim putem. Kao što je već spomenuto, cijanid se primjenjuje u brojnim granama industrije te može doći do izloženosti subletalnim dozama i u drugim tipovima postrojenja. Simptomi koji se posljedično razvijaju

uglavnom odražavaju subletalnu neurotoksičnost cijanida kao što su demijelinizacija, lezije vidnog živca koje uzrokuju optičku ataksiju, hipertenzija, Leberova optička atrofija kao i respiratorne i kardiovaskularne probleme te oštećenja štitnjače koji rezultiraju njenom smanjenom funkcijom (26). Različita istraživanja na životinjama o neurotoksičnosti uzrokovanj kasavom su pokazala smanjenje motoričke koordinacije i promjene u razinama neurotransmitera, osobito dopaminergičke promjene u mozgu. Oksidativni stres koji rezultira narušavanjem lanca prijenosa elektrona, dodatno pogoršava toksičnost (27). Cijanid se ne nakuplja niti biomagnificira, i čini se da kronična izloženost subletalnim koncentracijama cijanida ne dovodi do akutne toksičnosti (27). Nadalje, istraživanja provedena u krajevima svijeta gdje se cijanogene biljke stoljećima primjenjuju u prehrani (prvenstveno kasava) pokazuju da izloženost subletalnim dozama cijanida može imati utjecaj i na raspodjelu gena u populacijama. Istraživanja u Liberiji i drugim dijelovima tropske Afrike (27) pokazuju da prehrana koja sadrži kasavu može utjecati na biološki *fitness* i raspodjelu određenih gena za hemoglobin, mijenjajući osnovne metaboličke procese kao što su glukoneogeneza, funkcija enzima, aktivnost hormona štitnjače i usporavati uobičajene obrasce ljudskog rasta i razvoja. Visoka fenotipska i genotipska varijabilnost uočena među Afrikancima može odražavati potencijalno dramatičan utjecaj dugotrajne upotrebe kasave u prehrani.

Protuotrovi

Načini primjene

Putevi ulaska u organizam cijanidnih protuotrova određuju u kojim će se situacijama primjenjivati. Većina trenutno korištenih protuotrova (natrijev nitrit, natrijev tiosulfat, dikobaltov edetat i hidrosikobalamin) se daju u značajnim volumenima intravenski ili intraosealno (ubrizgavanje u koštanu srž). S obzirom na spomenute načine primjene ovi se protuotrovi smatraju slabo prilagodljivim za upotrebu kao prva pomoć kod trovanja nastalih u industrijskim pogonima (gdje je predviđeno da minimalno obučeni suradnici daju protuotrov) ili u scenariju masovnih trovanja (prilikom rata ili terorističkog napada). Budući da se amil nitrit udiše i dolazi u malim pakiranjima (perle), bolji je izbor kao protuotrov za prvu primjenu u industrijskim postrojenjima i vojnim jedinicama. Poželjan je protuotrov koji se može dati intramuskularnim autoinjektorom. 4-DMAP je protuotrov koji se primjenjuje intramuskularno u malim količinama, ali je neprikladan u atmosferi zasićenoj dimom jer je jedna od nuspojava ovog lijeka methemoglobinemija. Kao najuspješniji put primjene cijanidnih protuotrova nameće se oralni put. Kobinamid i α -ketoglutarat su istraživani kao

oralni protuotrovi. Prednost protuotrova koji se apsorbira oralno je mogućnost za profilaktičku primjenu kod vojnika i spasilaca kod kojih se očekuje neposredna izloženost. Nedostatak ovog puta primjene je pojava nesvjestice kao simptoma trovanja i odgođena crijevna apsorpcija zbog hipotenzije ili preusmjeravanja krvi u srce i mozak (19).

Ovisno o mehanizmu detoksikacije, protuotrovi su podijeljeni u tri skupine: induktori methemoglobina, donori sumpora i spojevi s kobaltom.

Induktori methemoglobina

Osnovni cilj brze detoksikacije cijanida je prevencija ili reverzija inhibicije citokrom oksidaze. To se obično postiže osiguravanjem velike koncentracije feri željeza u obliku methemoglobina koji se veže s cijanidom. Cijanid ima veći afinitet za Fe^{3+} ione methemoglobina u usporedbi s ionima citokrom oksidaze, te se veže s methemoglobinom i tvori cijanmethemoglobin, a inhibirana aktivnost citokrom oksidaze se obnavlja. U nastavku su navedeni i opisani induktori methemoglobina koji se danas primjenjuju u liječenju.

Nitriti

Amil i natrijev nitrit korišteni su kao protuotrovi u slučaju trovanja cijanidom od 1930-ih. Godinama se pretpostavljalo da je glavni mehanizam djelovanja nitrita stvaranje methemoglobina, a umjereno stvaranje methemoglobina bi većina žrtava mogla podnijeti unatoč njegovoj nemogućnosti prenošenja kisika. Methemoglobin veže cijanid zbog većeg afiniteta vezanja cijanida za methemoglobin nego za citokrom oksidazu, čime je omogućena oksidativna fosforilacija. Endogena rodanaza pretvara cijanid (i slobodan i onaj oslobođen iz cijanmethemoglobina) u manje otrovni tiocijanat, koji se može izlučivati urinom.

Amil nitrit je kao protuotrov molekula od interesa jer se udiše iz smrvljenih perli, koje si žrtva može sama pripremiti ili joj mogu pomoći osobe koje pružaju prvu pomoć. Natrijev nitrit se primjenjuje intravenozno i to od strane medicinskog osoblja. Pokazalo se da u zdravih dobrovoljaca intravenska doza od 310 mg uzrokuje stvaranje do približno 10 % methemoglobina (28). Way je 1984. (17) opisao sve korisne učinke primjene nitrita u terapiji trovanja cijanidom. Danas je poznato da nitriti doniraju i dušikov oksid što, uz stvaranje methemoglobina, regulira krvni tlak i izravno štiti citokrom oksidazu od cijanida pa se može zaključiti da su korisni učinci nitrita zapravo višestruki (19). Nikad nije objavljeno istraživanje sigurnosti primjene za ljude ili prospektivno kliničko ispitivanje upotrebe nitrita. Objavljena izvješća govore uglavnom o pojedinačnim slučajevima trovanja, a u većini njih terapija je uključivala i korištenje natrijevog

tiosulfata. Stoga je teško odrediti kliničku učinkovitost amil ili natrijeva nitrita, ali veliki dio opisanih slučajeva i veliki broj pokusa na životinjama pokazuju da nitriti doista jesu učinkoviti protuotrovi (19).

Nitriti mogu imati i značajne štetne učinke. Kao što je prethodno spomenuto, terapija nitritima rezultira stvaranjem methemoglobina. U zdravih osoba količina stvorenog methemoglobina lako se može izmjeriti CO-oksimezijom. U bolesnika otrovanog cijanidom, methemoglobin se brzo pretvara u cijanmethemoglobin, koji rutinska CO-oksimezija ili druge rutinske analitičke metode ne mogu detektirati. Otkrivanje methemoglobina u ovom slučaju predstavlja methemoglobin koji se stvara u suvišku jer nema dovoljno cijanida s kojim bi se mogao vezati. Nažalost, poput methemoglobina, cijanmethemoglobin također ne prenosi kisik. Dakle, rizik kod primjene natrijevog nitrita u slučaju teško otrovanog bolesnika je visoka koncentracija methemoglobina i cijanmethemoglobina. Još jedan značajan negativan učinak nitrita je vazodilatacija te nastanak hipotenzije, izazvan otpuštanjem dušikovog oksida (19). U siječnju 2011. Američka organizacija za hranu i lijekove FDA (engl. *The Food and Drug Administration*) odobrila je primjenu nitrita kao protuotrova kod trovanja cijanidom u sklopu novog lijeka Nithiodote (29).

4-dimetilaminofenol

4-dimetilaminofenol (4-DMAP) je cijanidni protuotrov koji se primjenjuje u Njemačkoj i Austriji. Najjeftiniji je od svih cijanidnih protuotrova. Induktor je methemoglobina, ima jače i brže djelovanje od natrijeva nitrita. Može se primijeniti intramuskularno ili intravenski.

Štetni učinci uključuju povećanje jetrenih enzima, hemolizu i lokalne kožne reakcije na mjestu ubrizgavanja. 4-DMAP je povezan sa stvaranjem previše methemoglobina (do 70 % nakon preporučenog doziranja) i multiorganskim zatajenjem u odsutnosti značajnog trovanja cijanidom (30).

Donori sumpora

Nakon početne terapije induktorima methemoglobina, cijanid se mora pretvoriti u tiocijanat koji se izlučuje urinom. Ovu enzimsku detoksikaciju cijanida, opisanu ranije u poglavlju „Učinci cijanida u ljudskom organizmu“, moguće je potpomoći primjenom donora sumpora.

Natrijev tiosulfat

Natrijev tiosulfat dio je već spomenutog protuotrova Nithiodote gdje dolazi u kombinaciji s natrijevim nitritom. Pretpostavlja se da natrijev tiosulfat djeluje na

način da opskrbljuje rodanazu molekulama sulfan-sumpora, omogućujući stvaranje tiocijanata i regeneraciju prirodnog enzima (31). Natrijev tiosulfat u kombinaciji s natrijevim nitritom je u mnogim zemljama najprihvaćeniji postupak liječenja trovanja cijanidima. Za detoksikaciju cijanida iz krvi potreban je enzim rodanaza. Smanjena dostupnost rodanaze glavni je uzrok slabije učinkovitosti natrijevog tiosulfata. Kod sisavaca je rodanaza u izobilju prisutna samo u jetri i bubrezima (17), dok trovanje cijanidom najteže pogađa srčano i moždano tkivo, a natrijev tiosulfat ima ograničenu raspodjelu u tim tkivima. Natrijev tiosulfat se povremeno primjenjuje samostalno i predlaže se kod trovanja cijanidom do kojeg dolazi uslijed udisanja dima ili blažeg trovanja, iako je malo objavljenih slučajeva u kojima je primjenjivan kao jedina terapija (19).

Čini se da je natrijev tiosulfat prilično siguran, a njegova glavna nuspojava je povraćanje (31). Druge, rijetko zabilježene nuspojave uključuju uznemirenost, zamagljen vid, halucinacije, mentalne promjene, grčeve mišića, bolove u zglobovima i tinitus.

Spojevi s kobaltom

Ion kobalta tvori stabilan metalni kompleks s cijanidom i stoga je učinkovito terapijsko sredstvo u slučaju trovanja cijanidom.

Hidroksokobalamin

Hidroksokobalamin (vitamin B12a) je korišten kao protuotrov kod trovanja cijanidom od ranih 1970-ih. Odobren je u Francuskoj 1996. i glavni je protuotrov koji se tamo primjenjuje. Godine 2007. odobren je od Europske Unije. Izmjenom hidroksilne skupine hidroksokobalamina s cijanidom nastaje netoksični cijanokobalamin (vitamin B12), koji se zatim izlučuje urinom. Hidroksokobalamin se također veže za dušikov oksid (NO) što u konačnici ima povoljno djelovanje za oporavak krvnog tlaka kod otrovanih bolesnika (32).

Nesigurnost kod postavljanja dijagnoze trovanja cijanidom otežava odluku kod uzimanja antidotne terapije. U bolesnika bez svijesti, s apnejom i/ili hipotenzijom, primjena protuotrova natrijevog nitrita, koji može izazvati tešku hipotenziju i/ili methemoglobinemiju je opasna. Kako hidroksokobalamin ima tendenciju povisiti krvni tlak, a ne utječe na oksigenaciju prikladniji je za primjenu u navedenim situacijama. Hidroksokobalamin je siguran i za primjenu prilikom trovanja uslijed udisanja dima, za razliku od protuotrova koji potiču stvaranje methemoglobina i ne preporučuju se u ovakvim situacijama (19).

Hidroksokobalamin je jedan od rijetkih antidota cijanida koji su podvrgnuti procjeni sigurnosti kod zdravih dobrovoljaca. Forsyth i sur. (33) primjenjivali

su hidroskobalamin sa ili bez dodavanja natrijevog tiosulfata maloj skupini dobrovoljaca u otvorenom ispitivanju sigurnosti. Uhl i sur. (34) naknadno su izveli pokus s povećanjem doze u placebo kontroliranom ispitivanju sigurnosti hidroskobalamina u skupini od 136 ispitanika starosti od 18 do 60 godina. Dobrovoljci su dobivali 2,5; 5; 7,5 ili 10 g hidroskobalamina. Bili su promatrani 4 dana, zatim praćeni još 8, 15 i 28 dana nakon primjene. Štetne posljedice povezane s hidroskobalaminom uključivale su prolazno povećanje krvnog tlaka (obično < 4 sata), povremene alergijske reakcije, pustularni akneiformni osip i crvenkastu promjenu boje kože (35), plazme i urina. Iako je hidroskobalamin protuotrov za trovanje cijanidom koji najviše obećava, apsorpcija je nepredvidiva, a potrebna je velika doza za prevladavanje toksičnosti (36).

Dikobaltov edetat

Dikobalt edetat je cijanidni protuotrov koji se primjenjuje u Ujedinjenom Kraljevstvu. Djeluje kao kelator cijanida s kojim stvara stabilan kompleks.

Nuspojave uključuju edem lica, povraćanje, retrosternalnu bol u prsima, ventrikularnu tahikardiju i hipotenziju. Osip na koži, edem grkljana i anafilaktičke reakcije su također prijavljeni (19).

Tablica 2. ► Trenutno odobreni lijekovi za trovanje cijanidom i dijelovi svijeta u kojima se koriste. Prilagođeno prema (25).

Antidotska terapija	Zemlje u kojima je dostupna
Natrijev nitrit, amil nitrit i natrijev tiosulfat	Europa, Azija, SAD
Hidroskobalamin	Europska Unija, SAD
4-Dimetilaminofenol	Njemačka, Austrija, Nizozemska
Dikobalt edetat	Nizozemska, Francuska, Ujedinjeno Kraljevstvo, Australija, Izrael

Protuotrovi u razvoju

α -ketoglutarat

α -ketoglutarat se istražuje kao cijanidni protuotrov jer u reakciji s cijanidom stvara cijanhidrin. Kombinacija protuotrova α -ketoglutarata s *N*-acetilcisteinom (NAC) pokazala je povoljno djelovanje na obnavljanje energetskeg metabolizma mitohondrija i smanjenja oksidativnog stresa izazvanog cijanidima (27). Jedno od boljih svojstava ovog protuotrova je njegova mogućnost primjene oralnim putem, što je korisno za profilaktičku upotrebu kod vojske ili djelatnika prve pomoći koji su suočeni s poznatim incidentom s cijanidom. U životinja liječenih

α -ketoglutaratom, primijećene su povećane koncentracije alkalne fosfataze, uree i anorganskog fosfora, ali je mišljenje stručnjaka da je mala vjerojatnost za razvoj toksičnih učinaka u ljudskom organizmu (37). Štetni učinci u I. fazi istraživanja na ljudima uključivali su povraćanje kod bolesnika koji su primali koncentriranu otopinu i blagu tahikardiju kod bolesnika koji su dobili razrijeđene otopine (38).

Kobinamid

Kobinamid je preposljednji prethodnik u biosintezi hidrosokobalamina. Od njega se razlikuje po nedostatku dimetilbenzimidazol ribonukleotidne skupine koordinirane na donji aksijalni položaj atoma kobalta (39). Strukturna razlika rezultira u nekoliko glavnih kemijskih razlika između kobinamida i hidrosokobalamina: 1. svaka molekula kobinamida može vezati dva liganda u usporedbi s jednim za hidrosokobalamin, 2. kobinamid ima puno veći afinitet za ligande od hidrosokobalamina zbog oslobađanja negativnog trans učinka velike dime-tilbenzimidiazolne skupine, i 3. kobinamid je znatno bolje topiv u vodi nego hidrosokobalamin (39). Izuzetno visoka konstanta vezanja kobinamida za cijanid omogućuje učinkovitu neutralizaciju cijanida (40) i temelj je za potencijalnu upotrebu kobinamida za neutralizaciju velikih doza cijanida u gastrointestinalnom traktu. Međutim, vezanje kobinamida s cijanidom ovisi o pH vrijednosti. Kod $\text{pH} > 4$ se postiže učinkovito vezanje (vezivanje je potpuno pri $\text{pH} 6-7$) i to je potrebno uzeti u obzir kod razmatranja oralne primjene kobinamida (41).

Dokazano je da kobinamid neutralizira cijanid koji se oslobađa iz natrijevog nitroprusida u *in vitro* uvjetima i u *in vivo* uvjetima na mišjem modelu (42). Bio je učinkovit u modelu zeca u slučaju subletalnog trovanja cijanidom (43). Chan i sur. (44) proučavali su kobinamid u inhalacijskom i intraperitonealnom modelu trovanja cijanidom kod miševa. Otkrili su da je kobinamid učinkovitiji od hidrosokobalamina, natrijevog tiosulfata, natrijevog nitrita i kombinacije natrijevog tiosulfata i natrijevog nitrita. U usporedbi s hidrosokobalaminom, kobinamid ima 3, odnosno 11 puta jače djelovanje u intraperitonealnom, odnosno inhalacijskom modelu. Testiranja sigurnosti na ljudima još nisu provedena.

Formulacije protuotrova koje se trenutno nalaze na tržištu za liječenje trovanja cijanidom moraju se davati intravenski, što ograničava njihovu upotrebu u slučaju potrebe liječenja masovnih trovanja. Prednost je što se kobinamid može unijeti i drugim putevima, npr. oralno i inhalacijom (36).

Hidroksilamin

Istraživanja su pokazala da je hidroksilamin, kao i 4-DMAP, brzi induktor met-hemoglobina kada se primjenjuje intramuskularno (45). Na modelu štakora se

kombinacija hidroksilamina i natrijevog nitrata, s ili bez dodanog natrijevog tiosulfata, pokazala učinkovitom za liječenje trovanja cijanidom. Kombinacija s natrijevim nitritom uzrokuje prolaznu hiperamonijemiju, sniženi srednji arterijski tlak i smanjeni broj otkucaja srca, s histopatološkim lezijama u plućima i jetri. Zbog navedenih štetnih učinaka se ova kombinacija protuotrova nije dalje istraživala (19).

Sulfanegen

Sulfanegen je u vodi topljivi prolijek 3-merkaptopiruvata koji je razvijen ranih 1990-ih kako bi se prevladao problem relativno niske stabilnosti 3-merkaptopiruvata kao donora sumpora. To je dimer koji neenzimski disocira u fiziološkim uvjetima na dva ekvivalentna monomera 3-merkaptopiruvata. Endogeni enzim 3-merkaptopiruvat sumpor transferaza (3-MPST) katalizira prijenos reaktivnog sulfan sumpora iz 3-merkaptopiruvata na cijanid što rezultira stvaranjem tiocijanata i piruvata (46). U usporedbi s rodanzom, enzim 3-MPST dostupan je i u mitohondrijima i u citoplazmi, dok je rodanaza prisutna samo u mitohondrijima jetrenog i bubrežnog tkiva. Pokazalo se da velika količina 3-MPST postoji u tkivu mozga, posebno u malom mozgu. Zbog visoke koncentracije enzima za detoksikaciju trovanja CN-om u mozgu očekuje se uspješna terapijska primjena ovog lijeka, jer su najveća oštećenja srca i mozga. Druga potencijalna prednost sulfanegena je činjenica da svoje djelovanje pokazuje za manje od 3 minute. Patterson i sur. (47) su otkrili sulfanegen trietanolamin, protuotrov koji je dobro topiv u vodi i mogao bi se primijeniti intramuskularnim putem.

Dimetil trisulfid

Jedan od nedavno otkrivenih potencijalnih protuotrova za trovanje cijanidom je dimetil trisulfid (DMTS). Prema djelovanju bi pripadao novoj generaciji donora sumpora (48). DMTS je prisutan u mnogim prirodnim izvorima, poput kupusa (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.), brokule (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck), cvjetače (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), ali ga u najvećim količinama ima u češnjaku (*Allium sativum* L.). Istraživanja su pokazala da DMTS pokazuje znatno višu aktivnost doniranja sumpora u *in vitro* i *in vivo* uvjetima u odnosu na dosadašnje donore sumpora poput tiosulfata (48-50).

Zaključak

Cijanidi su molekule široko rasprostranjene u okolišu i predstavljaju značajan zdravstveni rizik za stanovništvo iz nekoliko izvora, uključujući udisanje dima, rijetke industrijske nesreće, terorističke prijetnje te nepravilno

obrađene prehrambene namirnice. Unatoč godinama istraživanja, još uvijek nisu razjašnjeni svi mehanizmi kojima cijanidi izazivaju toksičnost u organizmu te kako tome doskočiti i proizvesti najuspješnije detoksikante. Dijagnoza također često ostaje nedostižna zbog nedostatka dostupnih specifičnih kliničkih ispitivanja. Cijanidni protuotrovi nisu lako dostupni i razlikuju se po prilagodljivosti okolnostima izloženosti (npr. inhalaciji dima) te načinu primjene i sigurnosnom profilu (npr. hipotenzija, methemoglobinemija). Iako većina radova u ovom području istražuje liječenje kod akutnog trovanja, valja naglasiti da su i kronična trovanja cijanidom opasna te uzrokuju štetu u gotovo svim organskim sustavima.

7-8
2023

Cyanide – plant producers and toxic effects on humans

Ž. Maleš, A.-M. Domijan, S. Gagić, V. Vujčić Bok

Abstract Cyanide has been part of plant metabolism and defense mechanisms for millions of years. People have also been exposed to cyanide since ancient times, mostly through cyanogenic plants used for food. In modern times, cyanide became part of many industrial processes. With the introduction of CN-assisted gold mining and the use of CN as a pest control agent in the nineteenth century, it became industrially significant. Both acute and chronic poisoning have a detrimental effect on the organism, mainly the heart, and nervous system. The molecular basis of CN poisoning was intensively explored, and critical pathways were identified as early as the 1930s. These fundamental investigations resulted in three categories of antidotes: methemoglobin inducers, sulfur donors, and cobalt compounds. Methemoglobin/NO producers (e.g., sodium nitrite, amyl nitrite, and dimethyl aminophenol), sulfur donors (e.g., sodium thiosulfate), and direct binding agents (e.g., hydroxocobalamin and dicobalt edetate) are now used in CN treatments. A concerted effort is being made to investigate innovative antidotal systems and develop them for quick administration at the site of intoxication in mass casualty scenarios. Novel antidotes, formulations, and delivery systems are improving bioavailability and efficacy, paving the way for a new generation of superior CN countermeasures. Some of the new antidotes currently under research are: α -ketoglutarate, cobinamide, hydroxylamine, sulfanegen and dimethyl trisulfide.

1. World health Organization. Hydrogen cyanide and cyanides: human health aspects. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42942>. Objavljeno: 2004. datum pristupa: 25.2.2023.
2. Gupta RC. Handbook of toxicology of chemical warfare agents. 1. ed. London: Academic Press, 2009.
3. Nelson L. Acute cyanide toxicity: mechanisms and manifestations. *J Emerg Nurs*. 2006; 32(4):S8–S11.
4. Dzombak DA, Ghosh RS, Wong-Chong GM. Cyanide in water and soil: Chemistry, Risk, and Management. Boca Raton: CRC press, 2005.
5. Siegień I, Bogatek R. Cyanide action in plants—from toxic to regulatory. *Acta Physiol. Plant*. 2006; 28:483–497.
6. Ebbs SD, Kosma DK, Nielson EH, Machingura M, Baker AJ, Woodrow IE. Nitrogen supply and cyanide concentration influence the enrichment of nitrogen from cyanide in wheat (*Triticum aestivum* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Plant Cell Environ*. 2010; 33(7):1152–1160.
7. Vetter J. Plant cyanogenic glycosides. *Toxicon*. 2000; 38(1):11–36.
8. Seigler DS. Plant secondary metabolism. New York: Springer, 1998.
9. Cressey P, Reeve J. Metabolism of cyanogenic glycosides: A review. *Food Chem. Toxicol*. 2019; 125:225–232.
10. <https://www.arundelarboretum.co.uk/blogs/fruit-trees/prunus-almond>. datum pristupa: 26.3.2023.
11. https://www.floralencounters.com/Seeds/seed_detail.jsp?grow=plants&productid=99718. datum pristupa: 26.3.2023.
12. <https://www.britannica.com/plant/cassava>. datum pristupa: 26.3.2023.
13. <https://www.thespruce.com/how-to-grow-lima-beans-4120940>. datum pristupa: 26.3.2023.
14. Grossmann K. Mediation of herbicide effects by hormone interactions. *J. Plant Growth Regul*. 2003; 22:109–122.
15. Borowitz JL, Isom GE, Baskin SI. Chemical Warfare Agents: Toxicity at Low Levels. Boca Raton: CRC Press LLC, 2001.
16. Ryan JG. Emergency Toxicology. 2. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998.
17. Way JL. Cyanide intoxication and its mechanism of antagonism. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*. 1984; 24(1):451–481.
18. Baskin SI, Petrikovics I, Kurche JS, Nicholson JD, Logue BA, Maliner BJ, Rockwood GA. Pharmacological perspectives of toxic chemicals and their antidotes. India: Springer, 2004.
19. Borron SW, Baud FJ. Antidotes for acute cyanide poisoning. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012; 13(10):1940–1948.
20. Kanthasamy AG, Ardel B, Malave A, Mills EM, Powley TL, Borowitz JL, Isom GE. Reactive oxygen species generated by cyanide mediate toxicity in rat pheochromocytoma cells. *Toxicol. Lett*. 1997; 93(1):47–54.
21. Sun P, Rane SG, Gunasekar PG, Borowitz JL, Isom GE. Modulation of the NMDA receptor by cyanide: enhancement of receptor-mediated responses. *J. Pharmacol. Exp*. 1997; 280(3):1341–1348.

22. Arden SR, Sinor JD, Potthoff WK, Aizenman E. Subunit-specific interactions of cyanide with the N-methyl-D-aspartate receptor. *J. Biol. Chem.* 1998; 273(34):21505–21511.
23. Ellenhorn MJ. *Ellenhorn's medical toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1997.
24. Abuye C, Kelbessa U, Wolde-Gebriel S. Health effects of cassava consumption in south Ethiopia. *East Afr Med J.* 1998; 75(3):166–170.
25. Petrikovics I, Budai M, Kovacs K, Thompson DE. Past, present and future of cyanide antagonism research: From the early remedies to the current therapies. *World. J. Methodol.* 2015; 5(2):88.
26. Carlsson L, Mlingi N, Juma A, Ronquist G, Rosling H. Metabolic fates in humans of linamarin in cassava flour ingested as stiff porridge. *Food Chem. Toxicol.* 1999; 37(4):307–312.
27. Satpute RM, Bhutia YD, Lomash V, Bhattacharya R. Efficacy assessment of co-treated alpha-ketoglutarate and N-acetyl cysteine against the subchronic toxicity of cyanide in rats. *Toxicol Ind Health.* 2019; 35(6):410–423.
28. Hunault CC, van Velzen AG, Sips AJ, Schothorst RC, Meulenbelt J. Bioavailability of sodium nitrite from an aqueous solution in healthy adults. *Toxicol. Lett.* 2009; 190(1):48–53.
29. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/201444_nithiodote_toc.cfm. datum pristupa: 23.2.2023.
30. Kerger H, Dodidou P, Passani-Kruppa D, Grüttner J, Birmelin M, Volz A, Waschke KF. Excessive methaemoglobinaemia and multi-organ failure following 4-DMAP antidote therapy. *Resuscitation.* 2005; 66(2):231–235.
31. Hall AH, Dart R, Bogdan G. Sodium thiosulfate or hydroxocobalamin for the empiric treatment of cyanide poisoning?. *Ann Emerg Med.* 2007; 49(6): 806–813.
32. Gerth K, Ehring T, Braendle M, Schelling P. Nitric oxide scavenging by hydroxocobalamin may account for its hemodynamic profile. *Clin Toxicol (Phila).* 2006; 44:29–36.
33. Forsyth JC, Mueller PD, Becker CE, Osterloh J, Benowitz NL, Rumack BH, Hall AH. Hydroxocobalamin as a cyanide antidote: safety, efficacy and pharmacokinetics in heavily smoking normal volunteers. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1993; 31(2):277–294.
34. Uhl W, Nolting A, Golor G, Rost KL, Kovar A. Safety of hydroxocobalamin in healthy volunteers in a randomized, placebo-controlled study. *Clin. Toxicol. (Phila).* 2006; 44:17–28.
35. Cescon DW, Juurlink DN. Discoloration of skin and urine after treatment with hydroxocobalamin for cyanide poisoning. *CMAJ.* 2009; 180(2):251.
36. Bhattacharya R. Antidotes to cyanide poisoning: present status. *Indian J. Pharmacol.* 2000; 32(2):94–101.
37. Bhattacharya R, Kumar D, Sugendran K, Pant SC, Tulsawani RK., Vijayaraghavan R. Acute toxicity studies of α -Ketoglutarate: a promising antidote for cyanide poisoning. *J Appl Toxicol.* 2001; 21(6):495–499.
38. Mittal G, Singh T, Kumar N, Bhatnagar A, Tripathi RP, Tulsawani R, Bhattacharya R. Radiolabeling and dose fixation study of oral alpha-ketoglutarate as a cyanide antidote in healthy human volunteers. *Clin Toxicol (Phila).* 2010; 48(6):509–515.

39. Broderick KE, Potluri P, Zhuang S, Scheffler IE, Sharma VS, Pilz RB, Boss GR. Cyanide detoxification by the cobalamin precursor cobinamide. *Exp. Biol. Med.* 2006; 231(5):641–649.
40. Bebartá VS, Pitotti RL, Boudreau S, Tanen DA. Intraosseous versus intravenous infusion of hydroxocobalamin for the treatment of acute severe cyanide toxicity in a swine model. *Acad Emerg Med.* 2014; 21(11):1203–1211.
41. Lee J, Mahon SB, Mukai D, Burney T, Katebian BS, Chan A, Brenner M. The vitamin B12 analog cobinamide is an effective antidote for oral cyanide poisoning. *J Med Toxicol.* 2016; 12:370–379.
42. Broderick KE, Balasubramanian M, Chan A, Potluri P, Feala J, Belke DD, McCulloch A, Sharma VS, Pilz RB, Bigby TD, Boss GR. The cobalamin precursor cobinamide detoxifies nitroprusside-generated cyanide. *Exp. Biol. Med.* 2007; 232(6):789–798.
43. Brenner M, Kim JG, Mahon SB, Lee J, Kreuter KA, Blackledge W, Mukai D, Patterson S, Mohammad O, Sharma VS, Boss GR. Intramuscular cobinamide sulfite in a rabbit model of sublethal cyanide toxicity. *Ann. Emerg. Med.* 2010; 55(4):352–363.
44. Chan A, Balasubramanian M, Blackledge W, Mohammad OM, Alvarez L, Boss GR, Bigby TD. Cobinamide is superior to other treatments in a mouse model of cyanide poisoning. *Clin. Toxicol. (Phila).* 2010; 48(7):709–717.
45. Vick JA, Von Bredow JD. Effectiveness of intramuscularly administered cyanide antidotes on methemoglobin formation and survival. *J Appl Toxicol.* 1996; 16(6):509–516.
46. Belani KG, Singh H, Beebe DS, George P, Patterson SE, Nagasawa HT, Vince R. Cyanide toxicity in juvenile pigs and its reversal by a new prodrug, sulfanegen sodium. *Anesth Analg.* 2012; 114:956–961.
47. Patterson SE, Monteil AR, Cohen JF, Crankshaw DL, Vince R, Nagasawa HT. Cyanide antidotes for mass casualties: water-soluble salts of the dithiane (sulfanegen) from 3-mercaptopyruvate for intramuscular administration. *J Med Chem.* 2013; 56:1346–1349.
48. Rockwood GA, Thompson DE, Petrikovics I. Dimethyl trisulfide: a novel cyanide countermeasure. *Toxicol Ind Health.* 2016; 32(12):2009–2016.
49. DeLeon SM, Downey JD, Hildenberger DM, Rhoomes MO, Booker L, Rockwood G A, Basi KA. DMTS is an effective treatment in both inhalation and injection models for cyanide poisoning using unanesthetized mice. *Clin Toxicol (Phila).* 2018; 56(5):332–341.
50. Petrikovics I, Kiss L, Chou CE, Ebrahimpour A, Kovács K, Kiss M, Rockwood GA. Antidotal efficacies of the cyanide antidote candidate dimethyl trisulfide alone and in combination with cobinamide derivatives. *Toxicol. Mech. Methods.* 2019; 29(6):438–444.

Primljeno 5. travnja 2023.