

## Морфологические изменения в сердце при отравлении клозапином (экспериментальное исследование)

О. Л. Романова<sup>1</sup>, Д. В. Сундуков<sup>1</sup>, А. М. Голубев<sup>1,2</sup>, А. С. Бабкина<sup>1</sup>, М. А. Голубев<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Российский университет дружбы народов, Москва  
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

<sup>2</sup> НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии  
Россия, 10703, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

<sup>3</sup> ООО «Корпорация «Медицинские электронные данные»,  
Россия, 107045, г. Москва, Сретенский тупик, д. 4

## Morphological Changes in the Heart with Clozapine Poisoning (Experimental Study)

Olga L. Romanova<sup>1</sup>, Dmitry V. Sundukov<sup>1</sup>, Arkady M. Golubev<sup>1,2</sup>,  
Anastasiya S. Babkina<sup>1</sup>, Mikhail A. Golubev<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Peoples' Friendship University of Russia,  
6 Miklukho-Maclaya, Moscow 117198, Russia

<sup>2</sup> V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,  
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation,  
25 Petrovka Str., Build. 2, Moscow 107031, Russia

<sup>3</sup> Corporation «Medical electronic data», LLC.,  
4 Sretensky tupik, Moscow 107045, Russia

**Цель исследования.** Выявление гистоморфологических изменений в сердце при острых отравлениях клозапином и комбинированных отравлениях этанолом и клозапином через 3 и 24 часа после отравления.

**Материалы и методы.** Опыты поставили на беспородных крысах-самцах массой 290–350 г. Клозапин вводили в дозе 150 миллиграмм на килограмм массы животного под наркозом (хлоролаза). Через 3 и 24 часа животных вывели из эксперимента декапитацией. Через 3 часа после отравления исследовали гистологические срезы сердца 5-и крыс, получивших клозапин перорально в дозе 150 мг/кг, и 5 крыс, получивших этанол (2–2,5 мл 70 % этанола в зависимости от массы животных) и клозапин перорально в вышеуказанных дозах. Также исследовали гистологические срезы сердца 10-и крыс, получивших аналогичные препараты в вышеуказанных дозах и выведенных из опыта через 24 часа после введения препаратов. Сравнение проводили с гистологическими срезами сердца 5-и крыс, не получивших вышеуказанных веществ. Оценивали наличие следующих морфологических признаков: расстройства кровообращения (полнокровие, кровоизлияния), эозинофилия, фрагментация кардиомиоцитов, клеточная реакция, гомогенизация цитоплазмы. Оценку проводили с применением критерия Фишера. Наличие признака считали достоверными при его появлении в 4–5 случаях в одной группе и полном отсутствии в другой.

**Результаты исследования.** В контрольной группе животных при гистологическом исследовании сердца каких-либо расстройств кровообращения, эозинофилии, фрагментации кардиомиоцитов, гомогенизации цитоплазмы не обнаружили. Наиболее ранним изменением в сердце при воздействии клозапина являлись нарушения кровообращения, которые появлялись уже через 3 часа после введения препарата и усиливались к 24 часу. Эозинофилию миокарда, специфичная для отравлений клозапином, наблюдали во всех опытных группах. В группе, получавшей клозапин и этанол, через 3 часа наблюдали гомогенизацию цитоплазмы, что свидетельствует о гибели клеток. В группе, получавшей клозапин как монопрепарат, подобных изменений не наблюдали. Возможно, появление подобных изменений связано с влиянием этанола. В группе, получавшей клозапин и этанол, через 3 часа наблюдали расстройства кровообращения (полнокровие вен, венул, мелкие перикапиллярные кровоизлияния). К 24 часу эти расстройства усиливались. Наблюдали артериальное и венозное полнокровие, перикапиллярные и перикапиллярные кровоизлияния.

**Заключение.** Изменения, выявленные при гистологическом исследовании сердца у животных, получавших клозапин и комбинацию этанола и клозапина, в совокупности с результатами судебно-химического анализа могут быть использованы для диагностики соответствующих отравлений и для установления их давности.

**Ключевые слова:** морфологические изменения в сердце; криминальные отравления; клозапин; этанол

Адрес для корреспонденции:

Ольга Романова  
E-mail: olgpharm@yandex.ru

Correspondence to:

Olga Romanova  
E-mail: olgpharm@yandex.ru

**Objective:** to identify histomorphological changes in the heart for acute poisoning with clozapine and combined poisonings with ethanol and clozapine 3 and 24 hours after poisoning.

**Materials and methods:** the experiments were performed in mongrel male rats weighing 290–350 g. Clozapine was administered at a dose of 150 mg/kg animal weight under anesthesia with chloralase. After 3 hours and 24 hours the animals were sacrificed by decapitation. Histological sections of the heart of 5 rats that had received clozapine orally at a dose of 150 mg/kg and of 5 rats that had received ethanol and clozapine orally in the above doses 3 hours after the poisoning were examined. There was also a study of histological sections of the heart of rats ( $n=10$ ) that had received similar preparations in the above doses and were withdrawn from the experiment 24 hours after the administration of the preparations. The comparison was performed by evaluating the histological sections of the heart of rats ( $n=5$ ) that had not received the above substances. The presence of following morphological signs was evaluated: circulatory disorders (plethora, hemorrhages), eosinophilia, fragmentation of cardiomyocytes, cell reaction, and homogeneity of the cytoplasm. The evaluation was carried out using the Fisher criterion. The presence of a sign was considered reliable when it appeared in 4–5 cases in one group and was completely absent in another.

**Results:** in the control group of animals the histological examination of the heart showed no circulatory disorders, eosinophilia, fragmentation of cardiomyocytes, or homogeneity of the cytoplasm. The earliest change in the heart with the effect of clozapine was blood circulation disorders that appeared already 3 hours after the administration of the medicine and increased by 24 hours. Eosinophilia of the myocardium, which is specific for clozapine poisoning, was observed in all experimental groups. In the clozapine and ethanol group, homogenization of the cytoplasm was observed after 3 hours, indicating cell death. In the group receiving clozapine as a monopreparation, similar changes were not observed. Perhaps, the appearance of such changes is associated with the influence of ethanol. In the group affected by clozapine and ethanol there were circulatory disorders (plethora of veins and venules, small pericapillary hemorrhages) after 3 hours. By 24 hours these disorders intensified. Arterial and venous plethora, periarterial and pericapillary hemorrhages were observed.

**Conclusion.** The changes revealed by histological examination of the heart in animals receiving clozapine and a combination of ethanol and clozapine, together with the results of forensic analysis, can be used to diagnose relevant poisonings and to establish their prescription.

**Key words:** *morphological changes in the heart; criminal poisoning; clozapine; ethanol*

DOI:10.15360/1813-9779-2017-2-6-13

## Введение

Отравления, как случайные, так и суицидальные, и криминальные, являются на сегодняшний день актуальной проблемой. При этом отравления лекарственными препаратами входят в тройку лидеров по числу отравлений наряду с отравлениями алкоголем и его суррогатами и отравлениями наркотическими веществами [1–4].

Достаточно часто встречаются отравления атипичным нейролептиком — клозапином. Клозапин (8-хлор-11-(4-метил-1-пиперазинил)-5Н-дибензо[*b,e*][1,4]дiazепин) по химическому строению представляет из себя трициклическое соединение; имеет сходство с производными 1,4-бензодиазепина [5–10].

Наибольшее число отравлений отравлений клозапином отмечено за период с 2000 по 2009 г., далее наблюдался небольшой спад в связи ужесточением правил отпуска данного препарата из аптек.

Отравления клозапином характеризуются тяжелым течением. Летальность при таких отравлениях высока и составляет, по данным различных авторов, 10–18% [11–13]. Традиционно почти все случаи, подозрительные на отравление клозапином и клозапином в сочетании с алкоголем, подлежат судебно-медицинскому исследованию. Диагностика отравлений клозапином является достаточно сложной судебно-медицинской

## Introduction

Today the casual, suicidal or criminal poisoning constitutes an urgent issue. At the same time poisonings with drugs are among the top three in terms of the number of poisonings, along with poisoning with alcohol and its surrogates and poisoning with narcotic substances [1–4].

Poisonings with an atypical neuroleptic — clozapine — occur quite often too. Clozapine (8-chloro-11-(4-methyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo [*b, e*][1,4]diazepine) is a tricyclic compound in the chemical structure similar to 1,4-benzodiazepine derivatives [5–10].

The highest incidence of poisoning with clozapine was observed during the period from 2000 to 2009, followed by a slight decline associated with the tightening of the rules for dispensing this medicine from pharmacies.

Clozapine poisoning tends to be severe. Lethality with such poisonings is high and amounts, according to the data of different authors, 10–18% [11–13]. Traditionally, almost all cases indicating a possibility of poisoning with clozapine and clozapine combined with alcohol are subject to forensic investigation. The diagnosis of clozapine poisoning is a rather complex forensic task. It is normally carried out in a complex manner taking into account clinical, histological, and biochemical data and a quantitative determination

задачей и проводится обычно комплексно с учетом клинико-anamnestических, секционных, гистологических, биохимических данных и количественного определения содержания препарата в биологических средах организма [12–15].

Клозапин относится к так называемым функциональным ядам. Патологические изменения во внутренних органах при отравлении им преимущественно неспецифичны и представляют собой прежде всего дисциркуляторные расстройства и дистрофические изменения паренхиматозных органов, что наблюдается и при отравлениях другими препаратами, имеющими нейротропное действие. Отмечаются, например, отек мозга, очаговые кровоизлияния в слизистую оболочку желудка, отек легких, очаговые интраальвеолярные кровоизлияния, дистелектазы, дистрофические изменения почек и миокарда [12–15].

В литературе имеются сведения о так называемом клозапин-ассоциированном эозинофильном миокардите, что специфично для отравления клозапином. Впервые на это обратили внимание J. E. Meeker и K. Worm в 90-х годах прошлого века при исследовании трупов лиц, погибших от острого смертельного отравления клозапином [16]. S. J. Haas с соавт. отмечают, что миокардит может развиваться у относительно молодых пациентов вскоре после начала лечения клозапином и нередко бывает фатальным [17]. О случаях миокардита, связанного с применением клозапина сообщается и в других работах [18–23].

По данным НИИ им. Н. В. Склифосовского, при морфологическом исследовании у всех умерших от отравления клозапином были выявлены достаточно однотипные изменения печени (очаговый или диффузный стеатоз). Жировая дистрофия носила крупно- и мелкокапельный характер. Авторы предположили, что его развитие связано с употреблением токсичных доз психотропных препаратов [24].

При комбинированном отравлении клозапином и этиловым алкоголем были выявлены неспецифичные морфологические изменения в нейронах головного мозга. Выявлялись признаки отека головного мозга и нарушения гемодинамики. Расстройства кровообращения характеризовались выраженным полнокровием капилляров и венул. Кроме полнокровия, отмечалась агрегация эритроцитов, формирование стазов и сладжей, выявлялось краевое стояние лейкоцитов. Повсеместно присутствовали отечные формы олигодендроцитов и астроцитов. Другим видом повреждений являлись гидропические изменения нейронов. К выявляемым повреждениям нервных клеток головного мозга относилось также сморщивание нейронов [25].

Сообщается о случаях развитии агранулоцитоза, предположительно связанного с применением клозапина [26].

of the drug content in the biological environment of the organism [12–15].

Clozapine refers to functional poisons. Pathological changes in internal organs during the poisoning are mostly non-specific and are primarily discirculatory disorders and dystrophic changes in parenchymatous organs, which is also observed in cases of poisoning with other drugs that have a neurotropic effect. There are, for example, cerebral edema, focal hemorrhages in the gastric mucosa, pulmonary edema, focal intra-alveolar hemorrhages, distelektases, and dystrophic changes in the kidneys and myocardium [11–15].

In the literature there is numerous data on clozapine-related eosinophilic myocarditis that is specific for clozapine poisoning. This complication was first noticed by J. E. Meeker and K. Worm in the 1990s in the study of the corpses of persons who had died from acute fatal clozapine poisoning [16]. S. J. Haas et al. noted that myocarditis could develop in relatively young patients soon after starting the treatment with clozapine and it is often fatal [17]. Cases of myocarditis associated with the use of clozapine were reported in other works [18–23].

According to N.V. Sklifosofsky Research Institute, a morphological study of all people who died of clozapine poisoning has shown fairly similar changes in the liver (focal or diffuse steatosis). There was large and small-droplet fat dystrophy. The authors suggested that the development was associated with the use of toxic doses of psychotropic drugs [24].

With combined poisoning with clozapine and ethyl alcohol, nonspecific morphological changes in neurons of the brain were revealed. There were signs of cerebral edema and hemodynamic disorders. Circulatory disorders were characterized by pronounced plethora of capillaries and venules. In addition to the plethora, there was an aggregation of erythrocytes, the formation of stasis and sludges; the marginal standing of leukocytes was revealed. Swelling forms of oligodendrocytes and astrocytes were generally present. Hydropic changes in neurons constituted another type of damage. Shrinkage of neurons was also among detectable lesions of brain nerve cells [25].

Agranulocytosis presumably associated with the use of clozapine has been reported [26].

Morphological criteria for acute fatal poisoning with clozapine should be considered in conjunction with results of forensic studies [27]. At this stage, objective and scientifically sound criteria for the forensic diagnosis of fatal poisoning with clozapine are required (according to the results of both morphological and forensic studies). This necessitates further research in this field.

The purpose of the study was to evaluate the histomorphological alterations in the heart caused

Морфологические критерии при острых смертельных отравлениях клозапином должны рассматриваться в комплексе с результатами судебно-химического исследования [27]. На данном этапе требуются объективные и научно обоснованные критерии судебно-медицинской диагностики смертельных отравлений клозапином (согласно результатам как морфологического, так и судебно-химического исследования). Это обуславливает необходимость проведения дальнейших исследований в данной области.

Цель исследования: Выявление морфологических изменений в сердце при острых отравлениях клозапином и комбинированных отравлениях этанолом и клозапином через 3 и 24 часа после отравления.

### Материал и методы

В исследование включили 4 экспериментальных группы по 5 крыс (беспородные самцы) и 5 контрольных крыс, не получавших ни клозапина, ни этанола. Масса подопытных животных — 290–350 г. Крысы 1-й и 2-й групп получали клозапин в дозе 150 мг/кг и были выведены из опыта путем декапации под наркозом (хлоролаза) через 3 и 24 часа, соответственно. Крысы 3-й и 4-й групп получали смесь клозапина (в той же дозе) и этанола (2–2,5 мл 70 % этанола в зависимости от массы животных) и были декапитированы через 3 и 24 часа после начала эксперимента.

Достоверность появления того или иного гистологического признака оценивали с применением критерия Фишера. Наличие признака считали достоверными при его появлении в 4–5 случаях в одной группе и полном его отсутствии в другой.

### Результаты и обсуждение

Через 3 часа после введения клозапина отмечали эозинофилию кардиомиоцитов. Также выявляли полнокровие сосудов (вен, венул), мелкие перикапиллярные кровоизлияния и отек ткани миокарда (рис. 1, *a*).

Капилляры были неравномерно полнокровны. В части кардиомиоцитов не было обнаружено ядер. При этом фрагментации кардиомиоцитов не отмечали.

Через 3 часа после введения клозапина как монопрепарата (при сравнении с контролем) достоверно наблюдали эозинофилию (5 случаев из 5), в контрольной группе данного изменения отмечено не было.

Через 24 часа после отравления в субэпикардальном и субэндокардиальном отделах сердца наблюдали эозинофилию кардиомиоцитов. В участках эозинофилии отмечалась фрагментация мышечных волокон (рис. 1, *b*). Регистрировали полнокровие вен и венул. Ядра части кардиомиоцитов были гипохромны.

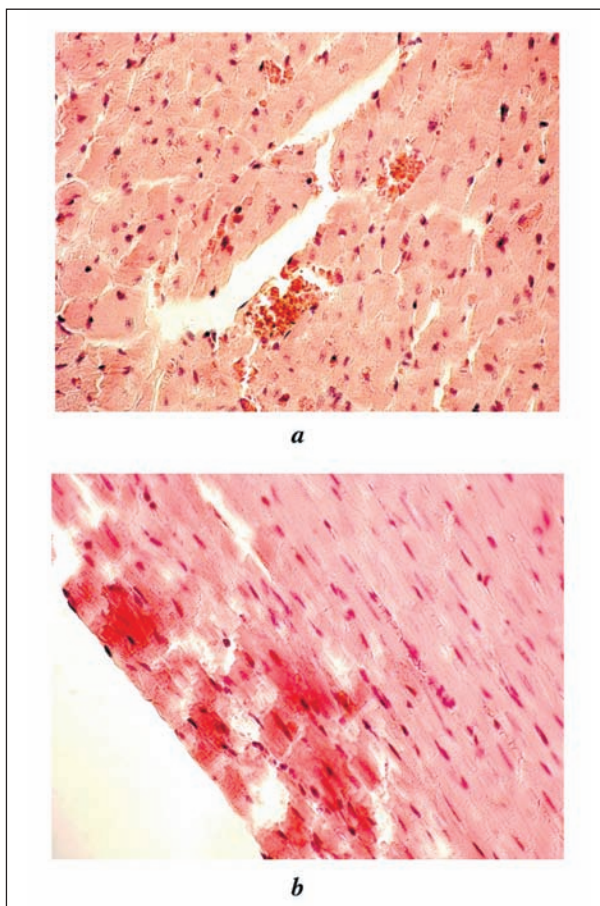


Рис. 1. Морфологические изменения в сердце при отравлении клозапином.

Fig. 1. Morphological changes in the heart with clozapine poisoning.

Note. Increase  $\times 200$ ; staining with hematoxylin and eosin. *a* — 3 hours, pericapillary hemorrhage; *b* — 24 hours, eosinophilia and fragmentation of muscle fibers.

Примечание. *a* — перикапиллярные кровоизлияния через 3 часа после введения клозапина. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 200$ ; *b* — эозинофилия и фрагментация мышечных волокон через 24 часа после введения клозапина. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 200$ .

by clozapine poisoning and by combination of clozapine with ethanol 3 and 24 hours after poisoning.

### Materials and Methods

The study included 4 experimental groups, rats each (mongrel males) and 5 control rats that did not receive either clozapine or ethanol. The weight of the experimental animals was 290–350 g. The rats in the first and second groups received clozapine in a dose of 150 mg/kg and were withdrawn from the experiment by decapitation under anesthesia (chlorolase) at 3 and 24 hours, respectively. Rats of the third and fourth groups received a mixture of clozapine (in the same dose) and ethanol (2–2.5 ml of 70% ethanol as a function of animal weight) and were decapitated 3 and 24 hours after the start of the experiment.

The reliability of the occurrence of a particular histological trait was assessed using the Fisher criterion. The presence of the trait was considered reliable when it



Через 24 часа после введения клозапина достоверно (сравнение с контролем; оценка методом Фишера) подтверждено наличие следующих гистологических изменений:

- Эозинофилия (рис. 1, *b*);
- Фрагментация кардиомиоцитов (рис. 1, *b*);
- Венозное полнокровие;
- Артериальное полнокровие.

Все вышеуказанные гистологические изменения наблюдали в опытной группе (в 4 или 5 случаях) и не наблюдали в контрольной группе.

При исследовании гистологических срезов сердца через 3 часа после сочетанного введения клозапина и этанола наблюдали венозное полнокровие и эозинофилия кардиомиоцитов. Встречались случаи фрагментации мышечных волокон. Наблюдали 2 случая сладжа. Наблюдали артериальное полнокровие и гомогенизация цитоплазмы (5 случаев из 5). В контрольной группе ни одного из вышеуказанных признаков отмечено не было.

При исследовании гистологических срезов сердца через 3 часа после комбинированного введения клозапина и этанола достоверно (сравнение с контролем; оценка методом Фишера) подтверждены следующие признаки:

- Венозное полнокровие;
- Перикапиллярные кровоизлияния (рис. 2, *a*);
- Эозинофилия;
- Гомогенизация цитоплазмы.

Все вышеуказанные гистологические изменения наблюдали в опытной группе (в 4 или 5 случаях) и не наблюдали в контрольной группе.

Через сутки после комбинированного отравления клозапином и этанолом отмечали венозное полнокровие, эозинофилия кардиомиоцитов. Оба признака наблюдали во всех 5 случаях в опытной группе и не наблюдали в контрольной. Также встречались случаи фрагментации мышечных волокон. Наблюдали артериальное полнокровие, периартериальный отек (рис. 2, *b*).

Через сутки после комбинированного введения клозапина и этанола достоверно (сравнение с контролем; оценка методом Фишера) подтверждены:

- Артериальное полнокровие;
- Венозное полнокровие;
- Эозинофилия.

Все вышеуказанные гистологические изменения наблюдали в опытной группе (в 4 или 5 случаях) и не наблюдали в контрольной группе.

При сравнении группы 1 (клозапин, 3 часа) и группы 3 (клозапин и этанол, 3 часа) выявили достоверные различия по признаку гомогенизация цитоплазмы.

Гомогенизацию цитоплазмы наблюдали в группе 3, а в группе 1 она не была выявлена.

appeared in 4–5 cases in one group and was completely absent in another.

## Results and Discussion

Three hours after the administration of clozapine eosinophilia of cardiomyocytes was observed. There were also plethora of veins and venules, small pericapillary hemorrhages and edema of myocardial tissue (Fig. 1, *a*).

The capillaries were unevenly full-blooded. In the part of cardiomyocytes no nuclei were found. At the same time, no fragmentation of cardiomyocytes was observed.

Three 3 hours after the administration of clozapine as a mono drug (when compared with the control), eosinophilia was authentically observed (5 cases out of 5); in the control group this change was not observed.

After 24 hours since the poisoning eosinophilia of cardiomyocytes was observed in the subepicardial and subendocardial areas of the heart. In the areas of eosinophilia there was fragmentation of muscle fibers (Fig. 1, *b*). Plethora of veins and venules was recorded. The nuclei of some cardiomyocytes were hypochromic.

24 hours after the administration of clozapine the following histological changes were reliably confirmed (compared with the control, Fisher's evaluation):

- Eosinophilia (Fig. 1, *b*);
- Fragmentation of cardiomyocytes (Fig. 1, *b*);
- Venous plethora;
- Arterial plethora.

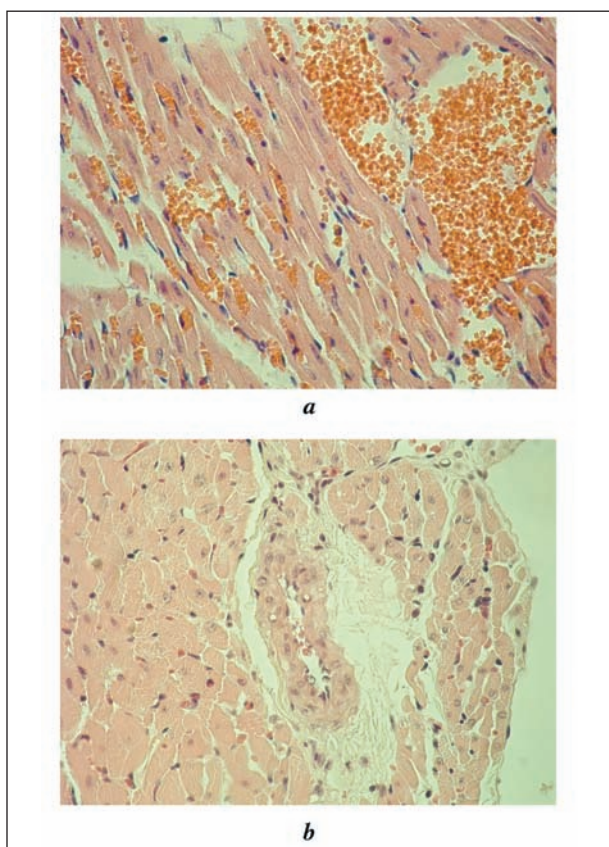
All the above histological changes were observed in the experimental group (in 4 or 5 cases) and were not observed in the control group.

In the study of histological sections of the heart 3 hours after the combined administration of clozapine and ethanol venous plethora and eosinophilia of cardiomyocytes were observed. There were cases of fragmentation of muscle fibers. Two cases of sludge were observed. Arterial plethora and homogenization of the cytoplasm were observed (5 cases out of 5). None of the above signs were noted in the control group.

In the study of histological sections of the heart 3 hours after the combined administration of clozapine and ethanol the following signs were reliably confirmed (compared with the control, Fisher's evaluation):

- Venous plethora;
- Pericapillary hemorrhage (Fig. 2, *a*);
- Eosinophilia;
- Homogeneity of the cytoplasm.

All the above histological changes were observed in the experimental group (in 4 or 5 cases) and were not observed in the control group.



**Рис. 2. Морфологические изменения в сердце при отравлении клозапином и этанолом.**

**Fig. 2. Morphological changes in the heart with clozapine and ethanol poisoning.**

**Note.** Increase  $\times 200$ ; staining with hematoxylin and eosin. *a* – 3 hours, pericapillary hemorrhage; *b* – 24 hours, periarterial edema.

**Примечание.** *a* – многочисленные кровоизлияния через 3 часа после введения клозапина и этанола. Окрасивание гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 200$ ; *b* – периартериальный отек через 24 часа после введения клозапина и этанола. Окрасивание гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 200$ .

При сравнении группы 1 (клозапин, 3 часа) и 2 (клозапин, 24 часа) наблюдали достоверные различия по признакам:

- Артериальное полнокровие;
- Периартериальные кровоизлияния.

Оба вышеуказанных признака наблюдали в группе 2 (клозапин, 24 часа) и не наблюдали в группе 1 (клозапин, 3 часа).

Достоверных различий между группами 3 (клозапин+этанол, 3 часа) и 4 (клозапин+этанол, 24 часа) не наблюдали; достоверных различий между группами 2 (клозапин, 24 часа) и 4 (клозапин+этанол, 24 часа) не наблюдали.

Наиболее ранним изменением в сердце при воздействии клозапином являлись нарушения кровообращения, которые появлялись уже через 3 часа после введения препарата и усиливались к 24 часу. Выявляемое полнокровие и кровоизлияния характерны для гипоксии.

Появление фрагментации кардиомиоцитов характерно для тяжелых нарушений ритма.

Venous plethora and eosinophilia of cardiomyocytes were observed a day after the combined poisoning with clozapine and ethanol. Both signs were observed in all 5 cases in the experimental group and were not observed in the control group. There have also been cases of fragmentation of muscle fibers. Arterial plethora and periarterial edema were revealed (Fig. 2, *b*).

One day after the combined administration of clozapine and ethanol the following traits were reliably confirmed (compared with the control, Fisher's evaluation):

- Arterial plethora;
- Venous plethora;
- Eosinophilia.

All the above histological changes were observed in the experimental group (in 4 or 5 cases) and were not observed in the control group.

A comparison of the Group 1 (clozapine, 3 hours) and the Group 3 (clozapine and ethanol, 3 hours) revealed significant differences in the homogeneity of the cytoplasm.

Homogeneity of the cytoplasm was observed in the Group 3, but not detected in the Group 1.

A comparison of the Group 1 (clozapine, 3 hours) and the Group 2 (clozapine, 24 hours) showed significant differences in the following traits:

- Arterial plethora;
- Periarterial hemorrhage.

Both of the above traits were observed in the Group 2 (clozapine, 24 hours) and were not observed in the Group 1 (clozapine, 3 hours).

There were no significant differences detected between the Group 3 (clozapine + ethanol, 3 hours) and the Group 4 (clozapine + ethanol, 24 hours); there were no significant differences between the Group 2 (clozapine, 24 hours) and the Group 4 (clozapine + ethanol, 24 hours).

The earliest change in the heart triggered by clozapine was blood circulation disorders that appeared already 3 hours after the administration of the medicine and increased by 24 hours. The identified plethora and hemorrhages are typical for hypoxia.

The appearance of fragmentation of cardiomyocytes is characteristic of severe rhythm disturbances. There are reports of the development of arrhythmias with clozapine exposure in the literature available [10, 11].

Myocardial eosinophilia, which is relatively specific for clozapine poisoning, was observed in all experimental groups. The results obtained are consistent with the literature data [17–23]. Hypereosinophilia with clozapine was observed in approximately two thirds of patients [23] presumably due to immunoglobulin-E-mediated reaction. Eosinophils in large numbers were deposited in the myocardium, were degranulated and released a large number of substances resulted in a toxic effect on membranes,

В доступной литературе существуют сообщения о развитии аритмий при воздействии клозапина [10, 11].

Эозинофилию миокарда, относительно специфичную для отравлений клозапином, наблюдали во всех опытных группах. Полученные результаты согласуются с литературными данными [17–23]. Гиперэозинофилия при применении клозапина наблюдается примерно у двух третей пациентов [23]. По механизму развития это иммуноглобулин-Е-опосредованная реакция. Эозинофилы в большом количестве откладываются в миокарде, подвергаются дегрануляции и выделяют большое количество веществ, которые оказывают токсическое действие на мембраны, ферменты, митохондрии кардиомиоцитов. К цитотоксическим веществам, выделяющимся при дегрануляции эозинофилов, относятся катионные белки, основной эозинофильный белок, нейротоксины и другие вещества, под влиянием которых развивается повреждение миокарда и эндокарда.

В группе, получавшей клозапин и этанол, через 3 часа наблюдали гомогенизацию цитоплазмы, что свидетельствует о гибели клеток. В группе, получавшей клозапин как монопрепарат, подобных изменений не наблюдали. Возможно, появление подобных изменений связано с влиянием этанола.

В группе, получавшей клозапин и этанол, через 3 часа наблюдали расстройства кровообращения (полнокровие вен, венул, мелкие перикапиллярные кровоизлияния), что вызвано воздействием циркуляторной гипоксии и повышенной агрегацией эритроцитов [7–10, 28]. К 24 часу эти расстройства усиливались. Наблюдали артериальное и венозное полнокровие, периартериальные и перикапиллярные кровоизлияния, что связано с усилением гипоксии.

#### Литература

1. Стопницкий А.А., Акалаев Р.Н. Интенсивная терапия больных с отравлением уксусной кислотой, осложненным развитием шока. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (2): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-2-18-22>
2. Батоцыренов Б.В., Ливанов Г.А., Андрианов А.Ю., Васильев С.А., Кузнецов О.А. Особенности клинического течения и коррекция метаболических расстройств у больных с тяжелыми отравлениями метадонном. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (2): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-2-18>
3. Ливанов Г.А., Батоцыренов Б.В., Васильев С.А., Андрианов А.Ю., Баранов Д.В., Неженцева И.В. Окислительный дистресс и его коррекция реамберинном у больных с острым отравлением смесью психотропных веществ. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (5): 18–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-18>
4. Ливанов Г.А., Батоцыренов Б.В., Остапенко Ю.Н., Шестова Г.В., Рутковский Г.В., Малыгин А.Ю. Особенности ранней диагностики и лечения острых отравлений соединениями таллия. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (3): 35–40. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-35>
5. Голубев А.М., Сундуков Д.В., Романова О.Л. Оценка морфологических изменений в легких при острых отравлениях клозапином, этиловым алкоголем и их сочетании. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (4): 6–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-4-6-13>
6. Лозадзе А.Т., Ливанов Г.А., Батоцыренов Б.В., Коваленко А.Л., Лодягин А.Н., Глушков С.И., Баранов Д.В., Антонова А.М., Харитонова

enzymes and mitochondria of cardiomyocytes. Cytotoxic substances released during degranulation of eosinophils are known to include cationic proteins, the main eosinophilic protein, neurotoxins and other substances that contribute to the development of damage in the myocardium and endocardium.

In the clozapine and ethanol group homogeneity of the cytoplasm was observed after 3 hours that indicated cell death. In the group receiving clozapine as a monopreparation, similar changes were not observed. Therefore, the noticed alterations might be due to influence of ethanol.

In the group receiving clozapine and ethanol there were circulatory disorders after 3 hours (pleural veins, venules, small pericapillary hemorrhages) caused by circulatory hypoxia and the increased erythrocyte aggregation [7–10, 28]. By 24 hours these disorders intensified. We observed arterial and venous plethora, periarterial and pericapillary hemorrhages, which were associated with increased hypoxia.

#### Conclusion

The changes revealed by histological examination of the heart in animals receiving clozapine and a combination of ethanol and clozapine, along with the results of forensic analysis, can be used to diagnose the corresponding poisonings and to establish their prescription.

#### Заклучение

Изменения, выявленные при гистологическом исследовании сердца у животных, получавших клозапин и комбинацию этанола и клозапина, в совокупности с результатами судебно-химического анализа могут быть использованы для диагностики соответствующих отравлений и для установления их давности.

#### References

1. Stopnitsky A.A., Akalaev R.N. Intensive therapy of patients with acetic acid poisoning complicated by shock. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2014; 10 (2): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-2-18-22>. [In Russ., In Engl.]
2. Batotsyrenov B.V., Livanov G.A., Andrianov A.Yu., Vasilyev S.A., Kuznetsov O.A. The clinical course and correction of metabolic disturbances in patients with severe methadone poisoning. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2013; 9 (2): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-2-18>. [In Russ., In Engl.]
3. Livanov G.A., Batotsyrenov B.V., Vasilyev S.A., Andrianov A.Yu., Baranov D.V., Nezhentseva I.V. Oxidative distress and its correction with reamberin in patients with acute poisoning by a mixture of psychotropic substances. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2013; 9 (5): 18–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-18>. [In Russ., In Engl.]
4. Livanov G.A., Batotsyrenov B.V., Ostapenko Yu.N., Shestova G.V., Rutkovsky G.V., Malugin A.Yu. Acute severe thallium poisoning: early diagnosis and treatment. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2013; 9 (3): 35–40. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-35>. [In Russ., In Engl.]
5. Golubev A.M., Sundukov D.V., Romanova O.L. Assessment of lung morphological changes in acute intoxications with clozapine, ethanol and their combination. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (4): 6–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-4-6-13>. [In Russ., In Engl.]



- Т.В. Острые отравления диацетилморфином (героином) (обзор). *Общая реаниматология*. 2016; 12 (6): 64–81. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2016-6-64-81>
7. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. 21-е изд. М.: АстраФармСервис; 2014: 8.
  8. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. 16-е изд. М.: Новая волна; 2014: 73–74.
  9. *Covard D.M.* General pharmacology of clozapine. *Br. J. Psychiatry Suppl.* 1992; 17: 5–11. PMID: 1358127
  10. Clozaril (clozapine tablets). Product monograph. Dorval (QC): Novartis Pharmaceuticals Canada Inc; 2014.
  11. *Kervin R.W.* Clozapine: back to future for shizophrenia research. *Lancet.* 1995; 345 (8957): 1063–1064. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(95\)90811-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(95)90811-0). PMID: 7715333
  12. *Слюндин Д.Г., Ливанов А.С., Ануцин В.В., Бобринская И.Г., Гугова Е.В.* Криминальные отравления клозапином. *Анестезиология и реаниматология*. 2007; 4: 61–64. PMID: 17929492
  13. *Зимина Л.Н., Павленко Е.Ю., Ильяшенко К.К.* Морфологические аспекты острых отравлений лепонексом и финлепсином. *Анестезиология и реаниматология*. 2005; 6: 35–37. PMID: 16499104
  14. *Мурхазанов Р.А.* Клинические аспекты отравления клозапином. *Акту. вопросы внутр. болезней*. 2000; 24: 252.
  15. *Ермохина Т.В., Лужников Е.А., Ильяшенко К.К.* Гериатрические аспекты диагностики лечения отравлений психотропными веществами. *Анестезиология и реаниматология*. 2008; 6: 37–39. PMID: 19227292
  16. *Meeker J.E., Herrmann P.W., Som C.W., Reynolds P.C.* Clozapine tissue concentrations following an apparent suicidal overdose of Clozaril. *J. Anal. Toxicol.* 1992; 16 (1): 54–56. <http://dx.doi.org/10.1093/jat/16.1.54>. PMID: 1640699
  17. *Haas S.J., Hill R., Krum H., Liew D., Tonkin A., Demos L., Stephan K., McNeil J.* Clozapine-associated myocarditis: a review of 116 cases of suspected myocarditis associated with the use of clozapine in Australia during 1993–2003. *Drug Saf.* 2007; 30 (1): 45–57. <http://dx.doi.org/10.2165/00002018-200730010-00005>. PMID: 17194170
  18. *Lang U., Willbring M., von Golitschek R., Schmeisser A., Matschke K., Malte Tugtekin S.* Clozapine-induced myocarditis after long-term treatment: case presentation and clinical perspectives. *J. Psychopharmacol.* 2008; 22 (5): 576–580. <http://dx.doi.org/10.1177/0269881107082136>. PMID: 18308817
  19. *Winckel K., Siskind D., Hollingworth S., Wheeler A.* Clozapine-induced myocarditis: separating the wheat from the chaff. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 2015; 49 (2): 188. <http://dx.doi.org/10.1177/0004867414554269>. PMID: 25296630
  20. *Chatterton R.* Eosinophilia after commencement of clozapine treatment. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 1997; 31 (6): 874–876. <http://dx.doi.org/10.3109/00048679709065515>. PMID: 9483262
  21. *Kilian J.G., Kerr K., Lawrence C., Celermajer D.S.* Myocarditis and cardiomyopathy associated with clozapine. *Lancet.* 1999; 354 (9193): 1841–1845. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)10385-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(99)10385-4). PMID: 10584719
  22. *Merrill D.B., Ahmari S.E., Bradford J.M., Lieberman J.A.* Myocarditis during clozapine treatment. *Am. J. Psychiatry.* 2006; 163 (2): 204–208. <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.163.2.204>. PMID: 16449471
  23. *Ronaldson K.J., Fitzgerald P.B., Taylor A.J., Topliss D.J., McNeil J.J.* A new monitoring protocol for clozapine-induced myocarditis based on an analysis of 75 cases and 94 controls. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 2011; 45 (6): 458–465. <http://dx.doi.org/10.3109/00048674.2011.572852>. PMID: 21524186
  24. *Зимина Л.Н., Михайлова Г.В., Баранова М.В., Павленко Е.Ю., Полозов М.А., Попов С.В., Розумный П.А., Ильяшенко К.К., Ермохина Т.В.* Морфологические аспекты острых отравлений азалептином. *Суд.-мед. экспертиза*. 2008; 51 (3): 8–10. PMID: 18589664
  25. *Баширова А.Р., Сундуков Д.В., Голубев А.М.* Морфофункциональные патологические изменения головного мозга при смертельных отравлениях азалептином и этиловым алкоголем. *Мед. экспертиза и право*. 2013; 4: 35–36.
  26. *Velayudhan R., Kakkan S.* Late onset clozapine induced agranulocytosis. *Indian J. Psychol. Med.* 2014; 36 (4): 425–427. <http://dx.doi.org/10.4103/0253-7176.140738>. PMID: 25336778
  27. *Matsuda K.T., Cho M.C., Lin K.M., Smith M.W., Young A.S., Adams J.A.* Clozapine dosage, serum levels, efficacy and side-effect profiles: a comparison of Korean-American and Caucasian patients. *Psychopharmacol. Bull.* 1998; 32 (2): 253–257. PMID: 8783895
  28. *Hägg S., Spigset O., Söderström T.G.* Association of venous thromboembolism and clozapine. *Lancet.* 2000; 355 (9210): 1155–1156. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02066-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02066-3). PMID: 10791380
  6. *Loladze A.T., Livanov G.A., Batotsyrenov B.V., Kovalenko A.L., Lodyagin A.N., Glushkov S.I., Baranov D.V., Antonova A.M., Kharitonova T.V.* Acute diacetylmorphine (heroin) intoxication (review). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology.* 2016; 12 (6): 64–81. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2016-6-64-81>. [In Russ., In Engl.]
  7. VIDAL directory. Medicines in Russia. 21-st ed. Moscow: AstraFarmServis; 2014: 8. [In Russ.]
  8. *Mashkovsky M.D.* Medicinal products. 16-th ed. Moscow: Novaya Volna; 2014: 73–74. [In Russ.]
  9. *Covard D.M.* General pharmacology of clozapine. *Br. J. Psychiatry Suppl.* 1992; 17: 5–11. PMID: 1358127
  10. Clozaril (clozapine tablets). Product monograph. Dorval (QC): Novartis Pharmaceuticals Canada Inc; 2014.
  11. *Kervin R.W.* Clozapine: back to future for shizophrenia research. *Lancet.* 1995; 345 (8957): 1063–1064. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(95\)90811-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(95)90811-0). PMID: 7715333
  12. *Slyundin D.G., Livanov A.S., Anuchin V.V., Bobrinskaya I.G., Gutova E.V.* Criminal clozapine intoxications. *Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2007; 4: 61–64. PMID: 17929492. [In Russ.]
  13. *Zimina L.N., Pavlenko E.Yu., Ilyashenko K.K.* Acute poisoning by leponex and finlepsin: morphological aspects. *Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2005; 6: 35–37. PMID: 16499104. [In Russ.]
  14. *Murkhazanov R.A.* Clinical aspects of clozapine intoxication. *Aktualnye Voprosy Vnutrennikh Boleznei.* 2000; 24: 252. [In Russ.]
  15. *Ermokhina T.V., Luzhnikov E.A., Ilyashenko K.K.* Geriatric aspects of diagnosis and treatment of psychotropic agent poisonings. *Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2008; 6: 37–39. PMID: 19227292. [In Russ.]
  16. *Meeker J.E., Herrmann P.W., Som C.W., Reynolds P.C.* Clozapine tissue concentrations following an apparent suicidal overdose of Clozaril. *J. Anal. Toxicol.* 1992; 16 (1): 54–56. <http://dx.doi.org/10.1093/jat/16.1.54>. PMID: 1640699
  17. *Haas S.J., Hill R., Krum H., Liew D., Tonkin A., Demos L., Stephan K., McNeil J.* Clozapine-associated myocarditis: a review of 116 cases of suspected myocarditis associated with the use of clozapine in Australia during 1993–2003. *Drug Saf.* 2007; 30 (1): 45–57. <http://dx.doi.org/10.2165/00002018-200730010-00005>. PMID: 17194170
  18. *Lang U., Willbring M., von Golitschek R., Schmeisser A., Matschke K., Malte Tugtekin S.* Clozapine-induced myocarditis after long-term treatment: case presentation and clinical perspectives. *J. Psychopharmacol.* 2008; 22 (5): 576–580. <http://dx.doi.org/10.1177/0269881107082136>. PMID: 18308817
  19. *Winckel K., Siskind D., Hollingworth S., Wheeler A.* Clozapine-induced myocarditis: separating the wheat from the chaff. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 2015; 49 (2): 188. <http://dx.doi.org/10.1177/0004867414554269>. PMID: 25296630
  20. *Chatterton R.* Eosinophilia after commencement of clozapine treatment. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 1997; 31 (6): 874–876. <http://dx.doi.org/10.3109/00048679709065515>. PMID: 9483262
  21. *Kilian J.G., Kerr K., Lawrence C., Celermajer D.S.* Myocarditis and cardiomyopathy associated with clozapine. *Lancet.* 1999; 354 (9193): 1841–1845. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)10385-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(99)10385-4). PMID: 10584719
  22. *Merrill D.B., Ahmari S.E., Bradford J.M., Lieberman J.A.* Myocarditis during clozapine treatment. *Am. J. Psychiatry.* 2006; 163 (2): 204–208. <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.163.2.204>. PMID: 16449471
  23. *Ronaldson K.J., Fitzgerald P.B., Taylor A.J., Topliss D.J., McNeil J.J.* A new monitoring protocol for clozapine-induced myocarditis based on an analysis of 75 cases and 94 controls. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 2011; 45 (6): 458–465. <http://dx.doi.org/10.3109/00048674.2011.572852>. PMID: 21524186
  24. *Zimina L.N., Mikhailova G.V., Baranova M.V., Pavlenko E.Yu., Polozov M.A., Popov S.V., Rozumnyi P.A., Ilyashenko K.K., Ermokhina T.V.* Morphological aspects of acute poisoning with azaletin. *Sudebno-Meditsinskaya Ekspertiza.* 2008; 51 (3): 8–10. PMID: 18589664. [In Russ.]
  25. *Bashirova A.R., Sundukov D.V., Golubev A.M.* Morphofunctional pathological changes in the brain in case of fatal poisoning with azaletin and ethyl alcohol. *Meditsinskaya Ekspertiza i Pravo.* 2013; 4: 35–36. [In Russ.]
  26. *Velayudhan R., Kakkan S.* Late onset clozapine induced agranulocytosis. *Indian J. Psychol. Med.* 2014; 36 (4): 425–427. <http://dx.doi.org/10.4103/0253-7176.140738>. PMID: 25336778
  27. *Matsuda K.T., Cho M.C., Lin K.M., Smith M.W., Young A.S., Adams J.A.* Clozapine dosage, serum levels, efficacy and side-effect profiles: a comparison of Korean-American and Caucasian patients. *Psychopharmacol. Bull.* 1998; 32 (2): 253–257. PMID: 8783895
  28. *Hägg S., Spigset O., Söderström T.G.* Association of venous thromboembolism and clozapine. *Lancet.* 2000; 355 (9210): 1155–1156. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02066-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02066-3). PMID: 10791380

Поступила 15.12.16

Received 15.12.16