

ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛЕГКИХ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ КЛОЗАПИНОМ, ЭТИЛОВЫМ АКОГОЛЕМ И ИХ СОЧЕТАНИЕМ

А. М. Голубев^{1,2}, Д. В. Сундуков², О. Л. Романова²

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, Москва, Россия
Россия, 107031, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

² Российский университет дружбы народов, Москва, Россия
Россия, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

Assessment of Lung Morphological Changes in Acute Intoxications with Clozapine, Ethanol and Their Combination

A. M. Golubev^{1,2}, D. V. Sundukov², O. L. Romanova²

¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Moscow, Russia
25, Petrovka St., Build. 2, Moscow 107031, Russia

² Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
6, Miklukho-Maklai St., Moscow 117198, Russia

Цель исследования. Выявление морфологических изменений в легких при острых отравлениях клозапином, этанолом и комбинированных отравлениях этанолом и клозапином через 3 и 24 часа после отравления. **Материалы и методы.** Опыты поставлены на беспородных крысах-самцах массой 270–300 гр. Клозапин вводили в дозе 250 миллиграмм на килограмм массы животного под наркозом (хлоролаза). Через 3 и 24 часа животные выведены из эксперимента декапитацией. Исследованы гистологические срезы легких 6 крыс, получивших клозапин перорально в дозе 250 мг/кг, 6 крыс, получивших этанол перорально в дозе 8,6 мл/кг, 6 крыс, получивших этанол и клозапин перорально в вышеуказанных дозах через 3 часа после отравления. Также исследованы гистологические срезы легких крыс (18), получивших аналогичные препараты в вышеуказанных дозах и выведенных из опыта через 24 часа после введения препаратов. Сравнение проводили с гистологическими срезами легких крыс (6), не получивших вышеуказанных веществ. Статистическую обработку проводили непараметрическими методами (критерий χ^2). Оценивали следующие морфологические признаки: расстройства кровообращения (полнокровие, кровоизлияния), интерстициальный и альвеолярный отек, повреждение бронхиального и альвеолярного эпителия, эндотелия, клеточную реакцию. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. **Результаты исследования.** В контрольной группе животных при гистологическом исследовании какие-либо расстройства кровообращения, повреждения бронхиального и альвеолярного эпителия, эндотелия не обнаруживаются. У животных, получивших клозапин через 3 часа после введения препарата наблюдали резкие расстройства кровообращения в легких (полнокровие в системе легочной артерии, очаговое полнокровие капилляров межальвеолярных перегородок, вен), которые усиливались через сутки после введения препарата. В случае смерти через 3 часа после введения алкоголя обнаружен выраженный периваскулярный отек, полнокровие и кровоизлияния; в части альвеол содержалась отечная жидкость. Через 24 часа после введения алкоголя наблюдали умеренное венозное полнокровие. Секреторная активность слизистой оболочки бронхов снижалась. Через 3 часа после сочетанного введения клозапина и алкоголя отмечали резкие расстройства кровообращения в легких (выраженное полнокровие, многочисленные кровоизлияния, альвеолярный отек), повреждение (слущивание) бронхиального эпителия, отсутствие окрашивания ядер эндотелиальных клеток. Вокруг вен и артериовенозных анастомозов наблюдали скопление лимфоцитов. Периваскулярный отек отсутствовал. Через 24 часа после сочетанного введения клозапина и алкоголя повреждения усиливались. **Заключение.** Изменения, выявленные при гистологическом исследовании легких у животных, получивших 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 легких, криминальные отравления, клозапин, этанол.

Objective: to detect lung morphological changes in acute intoxications with clozapine, ethanol, and their combination 3 and 24 hours after poisoning. **Materials and methods.** Experiments were carried out in outbred male rats weighing 270–300 g. Clozapine was given in a dose of 250 mg per kg animal body weight under chloralose anesthesia. Following 3 and 24 hours, the animals were withdrawn from the experiment by decapitation. Lung histological sections from 6 rats that had received oral clozapine 250 mg/kg, 6 rats that had oral ethanol 8.6 ml/kg, and 6 rats that had a combination of ethanol and clozapine orally in the above doses were examined 3 hours after intoxication. Those from 18 rats that had been orally given the similar agents in the above doses and withdrawn from the experiment were also investigated 24 hours after drug administration. The sections were compared with those from 6 rats that had not received the above agents. Nonparametric methods (χ^2 test) were used for statistical processing. The investigators assessed the

Адрес для корреспонденции:

Ольга Романова
E-mail: olgpharm@ya.ru

Correspondence to:

Olga Romanova
E-mail: olgpharm@ya.ru

following morphological signs: circulatory disorders (plethora, hemorrhages), interstitial and alveolar edema, damage to the bronchial and alveolar epithelium and to the endothelium, and a cell reaction. The differences were considered significant at $p < 0.05$. **Results.** In the control animal group, histological examination did not reveal any circulatory disorders and damage to the bronchial and alveolar epithelium and to the endothelium. Three hours after its administration, the animals that had received clozapine were observed to have acute pulmonary circulatory disorders (plethora in the pulmonary artery system, focal plethora of the capillaries of interalveolar septa and that of veins) that increased 24 hours after its ingestion. If death occurred 3 hours after ethanol intake, there was obvious perivascular edema, plethora, and hemorrhage; some alveoli contained transudate. Moderate venous plethora was seen 24 hours following ethanol administration. The secretory activity of the bronchial mucosa decreased. Three hours after coadministration of clozapine and ethanol, there were acute pulmonary circulatory disorders (marked plethora, multiple hemorrhages, and alveolar edema), bronchial epithelial lesion (desquamation), and no staining of endothelial cell nuclei. Lymphocyte accumulation was observed around the veins and arteriovenous anastomoses. Perivascular edema was absent. The lesions increased 24 hours after coadministration of clozapine and ethanol. **Conclusion.** The changes found at lung histological examination of the animals receiving clozapine alone and its combination with ethanol in conjunction with the results of forensic chemical analysis may be used to diagnose relevant intoxications and to establish their duration. **Key words:** lung morphological changes, criminal intoxications, clozapine, ethanol.

DOI:10.15360/1813-9779-2015-4-6-13

Введение

Отравления являются актуальной проблемой судебной медицины [1–4].

В последнее время наблюдается резкое увеличение числа случаев использования клозапина с целью преднамеренного опьянения граждан для осуществления криминальных действий по отношению к ним [5]. Летальность при отравлении клозапином составляет 12–18%, по данным зарубежных авторов – 10% [6]. При одновременном приёме клозапина с этанолом отмечается возрастание тяжести его супрессивного действия на организм человека, такие отравления характеризуются более высокой летальностью (30%).

Клозапин (8-хлор-11-(4-метил-1-пиперазенил)-5Н-дibenzo[b,e]-дiazepин (азалептин, лепонекс, алемоксан, ипрокс и др.) представляет собой атипичный нейролептик; по химическому строению – это трициклическое соединение, являющееся производным 1,4-бензодиазепина [7].

Клозапин применяется при острых и хронических формах шизофрении, психозах, маниакальных состояниях, маниакально-депрессивном психозе, различных психотических состояниях, психомоторном возбуждении, при агрессивности, расстройстве сна.

Ежегодно курс лечения этим препаратом проходят около 1 млн. пациентов более, чем в 60 странах мира [8], что определяет высокий риск отравления клозапином. Этому способствует также наличие узкого диапазона между его терапевтической и токсической дозами (высшая суточная доза – 0,9 г, смертельная доза для взрослых – 2 г) [7, 9].

Действие клозапина многогранно. Вследствие блокады α -адренорецепторов, он проявляет выраженный седативный эффект. Общий успокаивающий эффект сочетается с угнетением условнорефлекторной деятельности и двигательных защитных рефлексов, уменьшением спонтанной двигательной активности, расслаблением скелетной мускулатуры, понижением реактивности к эндогенным и экзогенным стимулам при сохранении сознания [10].

В качестве основных побочных эффектов клозапина можно выделить сонливость, спутанность сознания

Introduction

Poisoning is an important issue of forensic medicine [1–4].

The number of clozapine poisonings in order to perform criminal actions against citizens has increased recently [5]. The mortality in case of clozapine poisoning is 12–18% and 10%, as have been reported in Russia and other countries, respectively [6].

In the case of combined clozapine – ethanol intoxication a marked increase in the severity of clozapine suppressive action on the human body was detected, such poisoning had a higher mortality rate (30%).

Clozapine (8-chloro-11-(4-methyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[b,e]-diazepin (azaleptin, leponex, alemoxan, Ibrox, etc.) is an atypical neuroleptic; according to chemical structure, it is a tricyclic compound, a derivative of 1,4-benzodiazepines [7].

Clozapine is indicated in acute and chronic forms of schizophrenia, psychosis, manic conditions, bipolar psychosis, various psychotic diseases, psychomotor agitation, aggressiveness, sleep disorders.

Approximately one million patients in more than 60 countries undergo the treatment with this drug annually [8], which determines a high risk of clozapine poisoning. This is also due to the narrow therapeutic threshold – the difference between therapeutic dose and toxic dose is small (the highest daily dose is 0.9 g whereas the lethal dose for adults is 2 g) [7, 9].

The effect of clozapine is multi-faceted. It has a pronounced sedative effect due to the blockade of α -adrenergic receptors that represents one of the main features of this drug compared with other antipsychotics. General sedative effect is combined with the inhibition of conditioned reflex activity and motor-protective reflexes, decrease of spontaneous motor activity, relaxation of skeletal muscles, decreased reactivity to endogenous and exogenous stimuli while maintaining consciousness [10].

The main side effects of clozapine include drowsiness, confusion, muscle relaxation, fainting and others [9]. The use of this drug may be accompanied by weight gain [11] even within the first days after the start of the treatment [12]. A number of cases of eosinophilia [13] and

ния, миорелаксирующее действие, обморочные состояния и другие [9]. Применение этого препарата может сопровождаться увеличением веса [11] уже в первые дни после начала лечения [12]. Сообщается также о случаях развития эозинофилии [13] и агранулоцитоза [14] при его применении.

Клинические проявления отравлений клозапином характеризуются угнетением центральной нервной системы [15]. Степень выраженности угнетения зависит от концентрации препарата в крови [15–16].

Распределение клозапина по органам происходит в 3 стадии: 1-я характеризуется падением концентрации вещества в крови и накоплением в паренхиматозных органах; во 2-й идет накопление во всех органах; 3-я характеризуется накоплением соединения в органах выделения (печени, почках) с одновременным уменьшением концентрации в других органах и тканях [17–19]. Наибольшее количество вещества концентрируется в желудочно-кишечном тракте, печени, почках.

Исследование, проведенное на крысах, показало, что через час после внутривенного введения (доза 20 мг/кг) концентрации препарата в легких, селезенке, печени и мозге составляли от 16 до 64 мкг/г. Через 6 часов после введения, концентрация клозапина в легких составила 52 мг/кг, а в других органах снизилась до 7 мг/кг. Это позволило сделать вывод, что препарат кумулирует в легких [20].

В силу своей неочевидности, все случаи, подозрительные на отравление клозапином, подлежат судебно-медицинскому исследованию. Вместе с тем, судебно-медицинская диагностика отравлений этим препаратом до настоящего времени затруднена. Обычно, установление диагноза в таких случаях производится комплексно с учетом клинико-anamnestических, секционных, гистологических, биохимических данных и количественного определения содержания клозапина в биологических средах организма.

Морфологические изменения при отравлениях клозапином не являются специфичными и проявляются дисциркуляторными расстройствами и дистрофическими изменениями паренхиматозных органов [21].

По данным НИИ им. Н. В. Склифосовского, при морфологическом исследовании у всех умерших от отравления клозапином были выявлены изменения печени, которые характеризовались очаговым или диффузным стеатозом. Жировая дистрофия носила крупно- и мелкокапельный характер. Выраженные изменения печени в ряде наблюдений отмечались на фоне диагностированного гепатита (в том числе HCV-этиологии). Часть пациентов длительно употребляла психотропные препараты с терапевтической целью, часть умерших злоупотребляли алкоголем. Однако в половине наблюдений мелкокапельный стеатоз печени не был обусловлен указанными выше причинами, поэтому можно думать о его развитии вследствие однократного употребления токсичных доз психотропных препаратов [21].

агранулоцитоза during clozapine treatment have been reported [14].

Clinical manifestations of clozapine poisonings are characterized by the depression of central nervous system [15]. The degree of this depression depends on the concentration of the drug in the blood [15–16].

There are three stages of clozapine distribution in the body. The first one is characterized by a decrease of the substance concentration in blood and its accumulation in parenchymal organs; the second one includes its accumulation in all organs; the third one is characterized by the accumulation of the substance in the organs of excretion (liver, kidneys) with a simultaneous decrease of the concentration in other organs and tissues [17–19]. The greatest amount of the substance is concentrated in the gastrointestinal tract, liver and kidneys.

A study conducted on rats showed that one hour after intraperitoneal injection of clozapine (20 mg/kg) the concentration of this drug in lungs, spleen, liver and brain ranged from 16 to 64 µg/g. Six hours after administration the concentration of clozapine in lungs was 52 mg/kg, and in other organs it decreased to 7 mg/kg. These data suggest that the drug accumulates in lungs [20].

Because of non-obviousness, all cases of suspected clozapine poisoning are the subject to forensic medical research. However, the establishing of forensic medical diagnosis in case of clozapine poisoning is complicated. The diagnosis in such cases is usually based on the integrative results of clinical, anamnestic, sectional, histological, and biochemical data for quantitative determination of clozapine in biological fluids of the body.

Morphological changes in case of clozapine poisoning are not specific and include discirculatory disorders and degenerative changes in parenchymatous organs [21].

According to the results of morphological study of liver in N. I. Sklifosovsky Institute of Emergency Medicine (Moscow), the revealed changes included focal or diffuse steatosis. The fatty degeneration was either atomized or globular. In a number of cases, the background of liver changes the hepatitis was diagnosed (including the one of HCV etiology). Some patients used psychotropic drugs with therapeutic purpose, some patients had an alcohol abuse. However, in half of the observations atomized hepatic steatosis was not due to the reasons mentioned above, therefore, it might develop due to one-time administration of toxic doses of psychotropic drugs [21].

There are data on the so-called clozapine-associated eosinophilic myocarditis in the literature [22–23]. Other data demonstrate that the clozapine poisoning is accompanied by brain changes (decrease of the basal ganglia and gray matter volume in the cerebral cortex and reduced blood flow) [24]. Recent study [25] showed that clozapine had a direct effect on endothelial cells of the blood-brain barrier (BBB) accompanied with impairment of brain functions. The latter presumably occurred due to oxidative stress and was accompanied by condensation and fragmentation of chromatin in the BBB endothelium cells.

В литературе имеются сведения о так называемом клозапин-ассоциированном эозинофильном миокардите [22–23].

Отравления клозапином сопровождаются изменениями в головном мозге (уменьшение объема базальных ганглиев, уменьшение объема серого вещества в коре больших полушарий и снижением кровотока) [24].

В недавнем исследовании [25] было показано, что клозапин оказывает непосредственное действие на эндотелиальные клетки гемато-энцефалического барьера (ГЭБ) с нарушением его функции. Это связано с развитием оксидативного стресса и сопровождается конденсацией и фрагментацией хроматина в клетках эндотелия ГЭБ.

В случаях смерти от острого комбинированного отравления клозапином и этиловым алкоголем, что также часто встречается в судебно-медицинской практике, выявляются острые неспецифичные повреждения нейронов головного мозга (как обратимые, так и необратимые) и нарушения кровообращения: полнокровные сосуды микроциркуляторного русла, периваскулярный и перицеллюлярный отек, что подтверждается результатами гистологических исследований головного мозга пациентов, умерших от сочетанного отравления клозапином и этанолом (26 человек в возрасте от 22 до 63 лет) [26].

Морфологические изменения в легких при острых отравлениях клозапином изучены недостаточно. В зарубежной литературе встречаются лишь разрозненные данные. Например, сообщается о развитии лимфоцитарного альвеолита, предположительно связанного с систематическим применением клозапина [27]. Описан случай развития интерстициальной пневмонии у пациента, работавшего в производственном отделе аптеки и контактировавшего с порошком клозапина в течение нескольких лет. Авторы сделали вывод о том, что развитие пневмонии связано с ингаляционным воздействием клозапина [28].

Цель исследования — выявление морфологических изменений в легких при острых отравлениях клозапином, этанолом и комбинированных отравлениях этанолом и клозапином через 3 и 24 часа после отравления.

Материал и методы

Опыты поставлены на беспородных крысах-самцах массой 270–300 г. Клозапин вводился в дозе 250 миллиграмм на килограмм массы животного под наркозом (хлоролаза). Через 3 и 24 часа животные выведены из эксперимента декапитацией. Исследованы гистологические срезы легких 6 крыс, получивших клозапин перорально в дозе 250 мг/кг, 6 крыс, получивших этанол перорально в дозе 8,6 мл/кг, 6 крыс, получивших этанол и клозапин перорально в вышеуказанных дозах через 3 часа после отравления. Также исследованы гистологические срезы легких крыс (18), получивших аналогичные препараты в вышеуказанных дозах и выведенных из опыта через 24 часа после введения препаратов. Сравнение проводили с гистологическими срезами легких крыс (6), не получивших вышеуказанных веществ. Статистическую обработку проводили непараметрическими методами (критерий χ^2). Оценивали следующие морфологические признаки: расстройства крово-

обращения. In cases of death caused by combined clozapine-ethanol poisoning, which are frequently seen in forensic practice, acute non-specific damage to the brain neurons (reversible and irreversible) and circulatory disorders occur, such as plethora of microcirculatory vessels, and perivascular pericellular edema. The latter features have been confirmed by the results of histological brain examination of the patients who died because of combined clozapine-ethanol poisoning (26 people aged 22 to 63) [26].

Morphologically changes in lungs in cases of acute clozapine poisoning have not been studied enough. There was only some scattered data in the scientific literature. For example, development of lymphocytic alveolitis presumably associated with systematic clozapine use has been reported [27]. There was a reported case of interstitial pneumonitis in a patient who had been working in a pharmacy under the exposure to powder clozapine for several years. The authors concluded that the development of pneumonia might be associated with inhalation exposure to clozapine [28].

The aim of the study — the estimation of morphological changes in the lungs in case of acute clozapine, ethanol and the combined clozapine-ethanol poisoning 3 and 24 hours after the intoxication of rats.

Materials and Methods

The study was conducted in outbred male rats. The dosage of clozapine was 250 mg/kg. The weight of the rats was 270–300 g. The study included six rats treated with clozapine (250 mg/kg per os), 6 rats treated with ethanol (8,6 ml/kg), 6 rats treated with clozapine (250 mg/kg) and ethanol (8,6 ml/kg). Three and 24 hours after drug administration the animals were decapitated, lung sectioning performed, and the histological slides of rat lungs prepared. The following morphological features were evaluated by observing each slide: circulatory disorders (hyperemia, hemorrhage), interstitial and alveolar edema, damage to the bronchial and alveolar epithelium, endothelium, the cellular response. Data were statistically processed with the aid of nonparametric methods (criterion χ^2). The differences were considered as significant at $P < 0.05$. The results of the study:

In the control group no disorders of blood circulation, damage to the bronchial and alveolar epithelium, endothelium were found.

The alveoli were expanded, and their lumens remained free. The interalveolar septa were thin, clusters of cells (lymphocytes, segmented leukocytes, macrophages) were not seen.

Three hours after clozapine administration stenosis in the pulmonary artery became evident. The arteries were expanded, the RSCs formed aggregates, their contours could not be clearly defined. Focal hyperemia of capillaries of the interalveolar septa had become prominent. Some of the interalveolar septa were swollen and thickened; numbers of lymphocytes and granulocytes were increased. The veins were moderately plethoric. Distelectasis located predominantly subpleurally was defined. Focal hemorrhages in interalveolar septa and alveoli were also clearly defined. There was a perivascular (mostly perivenular) accumulation of lymphocytes. RBCs were abundant in the lumen of the bronchi.

A day after clozapine administration circulatory disturbances became more severe accompanied by perivascular edema. Edematous fluid appeared in alveoli.

Three days after ethanol administration the histological changes were characterized by moderate arterial hyperemia and increased secreting function of bronchial mucous membrane. In

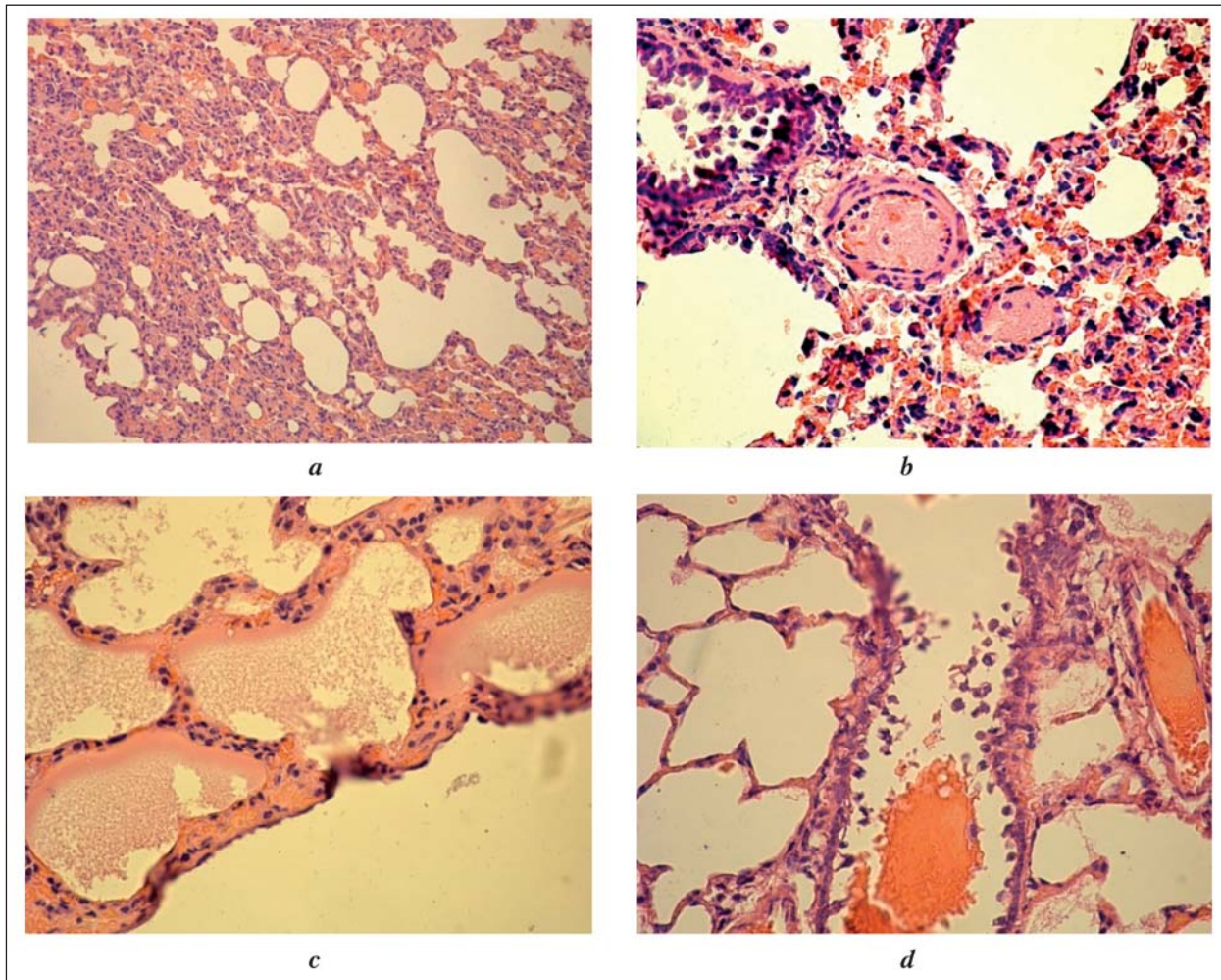


Рис. Гистологические срезы легких крысы через 3 часа после введения Клозапина.

Fig. Histological sections of rat lungs after 3 hours after administration of Clozapine.

Note (примечание): *a* – subpleural atelectasis – субплевральные ателектазы, $\times 100$; *b* – thrombosis of arteriole – тромбоз артериолы, $\times 200$; *c* – alveolar edema – альвеолярный отек, $\times 400$; *d* – desquamation of bronchial epithelium – слущивание эпителия бронха, $\times 400$. Histological sections stained with hematoxylin and eosin – гистологические срезы окрашены гематоксилином и эозином.

обращения (полнокровие, кровоизлияния), интерстициальный и альвеолярный отек, повреждение бронхиального и альвеолярного эпителия, эндотелия, клеточную реакцию. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В контрольной группе животных при гистологическом исследовании расстройства кровообращения, повреждения бронхиального и альвеолярного эпителия, эндотелия не обнаруживаются. Альвеолы расправлены, их просветы свободны. Межальвеолярные перегородки тонкие, скопления клеток (лимфоцитов, сегментоядерных лейкоцитов, макрофагов) на их территории не отмечается.

Через 3 часа после введения клозапина регистрируется полнокровие в системе легочной артерии. Артерии расширены, эритроциты образуют агрегаты, их контуры не определяются. Выявляется очаговое полнокровие капилляров межальвеолярных перегородок. Некоторые межальвеолярные перегородки отечны, утолщены, в них повышено содержание клеток (лимфо-

case of death within three hours after alcohol administration a pronounced perivascular edema, hyperemia and hemorrhage were detected. Some alveoli contained edematous fluid.

24 hours after alcohol administration there was a moderate venous plethora. The secretory activity of bronchial mucous membrane was reduced. There was no perivascular edema.

Three hours after combined clozapine – ethanol administration a significant hyperemia, numerous hemorrhages and alveolar edema were defined. A damage (desquamation) of the bronchial epithelium and the, absence of staining of the nuclei of endothelial cells were observed. There was significant accumulation of lymphocytes around veins and arteriovenous anastomoses.

24 hours after the combined administration of clozapine and alcohol hyperemia, the most observed features included hemorrhage, damage to the bronchial epithelium, thickening of the interalveolar septa, cellular reaction, accumulation of RBCs in the lumen of the bronchi.

Results and Discussion

The presence of perivascular edema in lungs, plethora and hemorrhage were observed in groups of animals, which received clozapine, ethanol and a combination of these sub-

циты, сегментоядерные лейкоциты). Вены умеренно полнокровны. Обнаруживаются дистелектазы, расположенные преимущественно субплеврально. Встречаются очаговые кровоизлияния в межальвеолярные перегородки и альвеолы. Периваскулярно (преимущественно перивенулярно) наблюдается скопление лимфоцитов. В просветах бронхов обнаруживаются эритроциты.

Изменения, регистрируемые через 3 часа после введения клозапина, показаны на рисунке (a, b, c, d).

Через сутки после введения клозапина расстройств кровообращения усиливаются. Развивается периваскулярный отек. Отечная жидкость появляется в альвеолах, расположенных в толще легких.

При изолированном введении алкоголя гистологические изменения через 3 часа после начала эксперимента характеризуются умеренным артериальным полнокровием, усилением секреторной функции слизистой оболочки бронхов. В случае смерти через три часа после введения алкоголя обнаружен выраженный периваскулярный отек, полнокровие и кровоизлияния. В части альвеол содержится отечная жидкость.

Через 24 часа после введения алкоголя отмечается умеренное венозное полнокровие. Секреторная активность слизистой оболочки бронхов снижается. Отсутствует периваскулярный отек.

Через 3 часа после сочетанного введения клозапина и алкоголя отмечается выраженное полнокровие, многочисленные кровоизлияния, альвеолярный отек. Регистрируется повреждение (слущивание) бронхиального эпителия, отсутствие окрашивания ядер эндотелиальных клеток. Вокруг вен и артериовенозных анастомозов отмечается скопление лимфоцитов.

Через 24 часа после сочетанного введения клозапина и алкоголя обнаруживаются полнокровие, кровоизлияния, повреждение бронхиального эпителия, утолщение межальвеолярных перегородок, клеточная реакция, эритроциты в просвете бронхов.

Появление в легких периваскулярных отеков, полнокровия и кровоизлияний наблюдалось в группах животных, изолированно получавших клозапин, этанол и комбинацию этих веществ. Это обусловлено повышением проницаемости сосудов гемомикроциркуляторного русла, в том числе гипоксией комбинированного генеза. Наблюдаемое при изолированном введении клозапина и комбинированном введении клозапина и этанола повреждение эпителия обусловлено непосредственным токсическим влиянием клозапина на клетки эпителия с резким усилением процесса перекисного

stances. This occurred because of increased vascular permeability of blood vessels due to hypoxia of complex genesis.

In case of clozapine and combined clozapine-ethanol administration the damage of epithelium occurred due to the direct toxic effect of clozapine on epithelial cells accompanied by an acute increase of the lipid peroxidation process (LPO) and damage of antioxidant defense system of blood [29–30].

The increase in the LPO intensity and the development of oxidative stress causes the increase of degenerative processes, the damage bronchoalveolar epithelium, and loss of its barrier function. Increased aggregation activity of RBCs and platelets observed in case of clozapine and combined clozapine – ethanol poisonings might be related to the blockade of 5-HT₃ receptors in platelets, as described in previous studies [7, 9–10, 31].

Conclusion

The changes revealed by histological examination of lungs of the animals treated with clozapine, ethanol or a combination of these substances, along with the results of forensic chemical analysis could be used to diagnose poisoning and to determine the exact time of the poisoning.

окисления липидов (ПОЛ) и нарушением антиоксидантной системы защиты крови [29–30].

Повышение интенсивности ПОЛ и развитие оксидативного стресса приводят к усилению дистрофических процессов, повреждению бронхоальвеолярного эпителия, утрате его барьерной функции. Повышение агрегационной активности эритроцитов и тромбоцитов, наблюдаемые при изолированном отравлении клозапином и комбинированном отравлении клозапином и этанолом предположительно связаны с блокадой 5-HT₃ рецепторов в тромбоцитах, что согласуется с литературными данными [7, 9–10, 31].

Заклучение

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

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 коррек-

References

1. *Stopnitsky A.A., Akalaev R.N.* Intensivnaya terapiya bolnykh c otravleniem uksusnoy kislotoy, oslozhnennym razvitiem shoka. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Intensive therapy of patients with acetic acid poisoning complicated by shock. *General Reanimatology*]. 2014; 10 (2): 18-22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-2-18-22>. [In Russ.]
2. *Batotsyrenov B.V., Livanov G.A., Andrianov A.Yu., Vasilyev S.A., Kuznetsov O.A.* Osobennosti klinicheskogo techeniya i korrektsiya metabolicheskikh rasstroystv u bolnykh s tyazhelymi otravleniyami metadonom. *Obshchaya Reanimatologiya*. [The clinical course and correction of metabolic disturbances in patients with severe methadone poisoning. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (2): 18-22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-2-18>. [In Russ.]

Acute Poisonings and Intoxications

- ция реамберином 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. Слюндин Д.Г., Ливанов А.С., Анухин В.В., Бобринская И.Г., Гутова Е.В. Криминальные отравления клозапином. *Анестезиология и реаниматология*. 2007; 4: 61-64. PMID: 17929492
 6. Flanagan R.J. Fatal toxicity of drugs used in psychiatry. *Hum. Psychopharmacol.* 2008; 23 (Suppl 1): 43-51. <http://dx.doi.org/10.1192/bjp.bp.109.070219>. PMID: 18098225
 7. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. 21-е изд. М.: Астрафармсервис; 2014: 8.
 8. Ермохина Т.В., Лужников Е.А., Ильяшенко К.К. Гериатрические аспекты диагностики и лечения отравлений психотропными веществами. *Анестезиология и реаниматология*. 2008; 6: 37-39. PMID: 19227292
 9. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2-х частях. 16-е изд. М.: Новая волна; 2014: 73-74.
 10. Kervin R.W. Clozapine: back to future for schizoprenia research. *Lancet*. 1995; 345 (8957): 1063-1064. PMID: 7715333
 11. Whitney Z.I., Procyshyn R.M., Fredrikson D.H., Barr A.M. Treatment of clozapine-associated weight gain: a systematic review. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2015; 71 (4): 389-401. <http://dx.doi.org/10.1007/s00228-015-1807-1>. PMID: 25627831
 12. Musil R., Obermeier M., Russ P., Hamerle M. Weight gain and antipsychotics: a drug safety review. *Expert. Opin. Drug Saf.* 2015; 14 (1): 73-96. <http://dx.doi.org/10.1517/14740338.2015.974549>. PMID: 25400109
 13. Aneja J., Sharma N., Mahajan S., Chakrabarti S., Grover S. Eosinophilia induced by clozapine: a report of two cases and review of the literature. *J. Family Med. Prim. Care.* 2015; 4 (1): 127-129. <http://dx.doi.org/10.4103/2249-4863.152269>. PMID: 25811003
 14. 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
 15. Кирюхина Н.А., Шигеев С.В. Острая интоксикация клозапином – актуальная судебно-медицинская проблема. Мат-лы науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвященной памяти проф. Г.А.Пашиняна. М.; 2011.
 16. Мурхазанов Р.А. Клинические аспекты отравления клозапином. *Акт. вопр. внутренних болезней*. 2000; 24: 252.
 17. 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
 18. Ackenheil M. Clozapine pharmacokinetic investigations and biological effects in man. *Psychopharmacology (Berl.)*. 1989; 99 (Suppl): S32-S37. PMID: 2682731
 19. Christians U. The future of therapeutic drug monitoring -pharmacodynamic and toxicodynamic monitoring. *Ther. Drug Monit.* 2004; 30 (2): 151-158. <http://dx.doi.org/10.1097/FTD.0b013e31816b9063>
 20. Gardiner T.H., Lewis J.M., Shore P.A. Distribution of clozapine in the rat: localization in lung. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1978; 206 (1): 151-157. PMID: 660545
 21. Зимина Л.Н., Михайлова Г.В., Баринаева 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
 22. 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
 23. 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): 47-57. PMID: 17194170
 24. Garcia G.J., Chagas M.H., Silva C.H., Machado-de-Sousa J.P., Crippa J.A., Hallak J.E. Structural and functional neuroimaging findings associated with the use of clozapine in schizophrenia: a systematic review. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2015; 37 (1): 71-79. <http://dx.doi.org/10.1590/1516-4446-2014-1387>. PMID: 25806554
 25. Elmsory E., Elzabalany L.M., Elsheikha H.M., Smith P.A. Adverse effects of antipsychotics on micro-vascular endothelial cells of the human blood-brain barrier. *Brain Res.* 2014; 1583: 255-268. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2014.08.011>. PMID: 25139421
 26. Башурова А.Р., Студюков Д.В., Голубев А.М. Морфофункциональные патологические изменения головного мозга при смертельных
 3. Ливанов Г.А., Батоцыренов Б.В., Васильев С.А., Андрианов А.Ю., Баранов Д.В., Незхемсева И.В. Окислительный дистресс и его коррекция реамберином у больных с острым отравлением смесью психотропных веществ. *Общая реаниматология*. [Oxidative distress and its correction with reamberin in patients with acute poisoning by a mixture of psychotropic substances. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (5): 18-23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-18>. [In Russ.]
 4. Livanov G.A., Batotsyrenov B.V., Ostapenko Yu.N., Shestova G.V., Rutkovsky G.V., Malygin A.Yu. Osobennosti rannei diagnostiki i lecheniya ostrykh otravlenii soedineniyami talliya. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Acute severe thallium poisoning: early diagnosis and treatment. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (3): 35-40. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-35>. [In Russ.]
 5. Slyundin D.G., Livanov A.S., Anuchin V.V., Bobrinskaya I.G., Gutova E.V. Kriminalnye otravleniya klozapinom. [Criminal clozapine intoxications]. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2007; 4: 61-64. PMID: 17929492. [In Russ.]
 6. Flanagan R.J. Fatal toxicity of drugs used in psychiatry. *Hum. Psychopharmacol.* 2008; 23 (Suppl 1): 43-51. <http://dx.doi.org/10.1192/bjp.bp.109.070219>. PMID: 18098225
 7. Spravochnik Vidal. Lekarstvennye preparaty v Rossii. 21-e izd. [Vidal Directory. Drugs in Russia. 21st ed.]. Moscow: AstraFarmServis; 2014: 8. [In Russ.]
 8. Ermokhina T.V., Luzhnikov E.A., Ilyashenko K.K. Geriatricheskie aspekty diagnostiki i lecheniya otravlenii psikhotropnymi veshchestvami. [Geriatric aspects of diagnosis and treatment of psychotropic agent poisonings]. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2008; 6: 37-39. PMID: 19227292. [In Russ.]
 9. Mashkovsky M.D. Lekarstvennye sredstva. V 2-kh chastyakh. 16-e izd. [Drugs. In 2 parts. 16-th ed.]. Moscow: Novaya Volna; 2014: 73-74. [In Russ.]
 10. Kervin R.W. Clozapine: back to future for schizoprenia research. *Lancet*. 1995; 345 (8957): 1063-1064. PMID: 7715333
 11. Whitney Z.I., Procyshyn R.M., Fredrikson D.H., Barr A.M. Treatment of clozapine-associated weight gain: a systematic review. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2015; 71 (4): 389-401. <http://dx.doi.org/10.1007/s00228-015-1807-1>. PMID: 25627831
 12. Musil R., Obermeier M., Russ P., Hamerle M. Weight gain and antipsychotics: a drug safety review. *Expert. Opin. Drug Saf.* 2015; 14 (1): 73-96. <http://dx.doi.org/10.1517/14740338.2015.974549>. PMID: 25400109
 13. Aneja J., Sharma N., Mahajan S., Chakrabarti S., Grover S. Eosinophilia induced by clozapine: a report of two cases and review of the literature. *J. Family Med. Prim. Care.* 2015; 4 (1): 127-129. <http://dx.doi.org/10.4103/2249-4863.152269>. PMID: 25811003
 14. 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
 15. Kiryukhina N.A., Shigeyev S.V. Ostraya intoksikatsiya klozapinom – aktualnaya sudбно-медитсiнская проблема. Materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhduнародnym uchastiem, posvyashchennoi pamyati professora G.A.Pashinyana. [Acute intoxication with clozapine is a topical forensic medical problem. Proceeding of the Scientific-and-Practical Conference dedicated to the memory of Prof. G.A. Pashinyan]. Moscow; 2011. [In Russ.]
 16. Murkhanov R.A. Klinicheskie aspekty otravleniya klozapinom. [Clinical aspects of clozapine poisoning]. *Aktualnye Voprosy Vnutrennikh Boleznei*. 2000; 24: 252. [In Russ.]
 17. 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
 18. Ackenheil M. Clozapine pharmacokinetic investigations and biological effects in man. *Psychopharmacology (Berl.)*. 1989; 99 (Suppl): S32-S37. PMID: 2682731
 19. Christians U. The future of therapeutic drug monitoring -pharmacodynamic and toxicodynamic monitoring. *Ther. Drug Monit.* 2004; 30 (2): 151-158. <http://dx.doi.org/10.1097/FTD.0b013e31816b9063>
 20. Gardiner T.H., Lewis J.M., Shore P.A. Distribution of clozapine in the rat: localization in lung. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1978; 206 (1): 151-157. PMID: 660545
 21. Zimina L.N., Mikhailova G.V., Barinova M.V., Pavlenko E.Yu., Polozov M.A., Popov S.V., Rozumnyi P.A., Ilyashenko K.K., Ermokhina T.V. Morfolоgicheskie aspekty ostrykh otravlenii azaleptinom. [Morphological aspects of acute intoxication with azaletptin]. *Sudбно-Meditсinskaya Ekspertiza*. 2008; 51 (3): 8-10. PMID: 18589664. [In Russ.]
 22. 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
 23. 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): 47-57. PMID: 17194170
 24. Garcia G.J., Chagas M.H., Silva C.H., Machado-de-Sousa J.P., Crippa J.A., Hallak J.E. Structural and functional neuroimaging findings associated with the use of clozapine in schizophrenia: a systematic review. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2015; 37 (1): 71-79. <http://dx.doi.org/10.1590/1516-4446-2014-1387>. PMID: 25806554
 25. Elmsory E., Elzabalany L.M., Elsheikha H.M., Smith P.A. Adverse effects of antipsychotics on micro-vascular endothelial cells of the human blood-brain barrier. *Brain Res.* 2014; 1583: 255-268. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2014.08.011>. PMID: 25139421
 23. 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

- отравлениях азалептином и этиловым алкоголем. *Мед. экспертиза и право*. 2013; 4: 35-36.
27. *Arias S.A., Cohen P., Kwon J.S.* Clozapine-induced lymphocytic alveolitis. *Am. J. Psychiatry*. 2011; 168 (2): 210-211. <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.2010.10101494>. PMID: 21297049
 28. *Lewis A., Gibbs A., Hope-Gill B.* Probable occupational pneumonitis caused by inhalation of crushed clozapine. *Occup. Med. (Lond.)*. 2012; 62 (5): 385-387. <http://dx.doi.org/10.1093/occmed/kqs041>. PMID: 22638645
 29. *Ильяшенко К.К., Лужников Е.А.* Токсическое поражение дыхательной системы при острых отравлениях. М.: МЕДПРАКТИКА; 2004: 175.
 30. *Казан В.Е., Орлов В.Н., Прилипко Л.И.* Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. М.; 1986: 136.
 31. *Oyewumi L.K., Cernovsky Z.Z., Freeman D.J., Streiner D.L.* Relation of blood counts during clozapine treatment to serum concentrations of clozapine and nor-clozapine. *Can. J. Psychiatry*. 2002; 47 (3): 257-261. PMID: 11987477
- Поступила 18.04.2015**
24. *Garcia G.J., Chagas M.H., Silva C.H., Machado-de-Sousa J.P., Crippa J.A., Hallak J.E.* Structural and functional neuroimaging findings associated with the use of clozapine in schizophrenia: a systematic review. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2015; 37 (1): 71-79. <http://dx.doi.org/10.1590/1516-4446-2014-1387>. PMID: 25806554
 25. *Elmorsy E., Elzalabany L.M., Elsheikha H.M., Smith P.A.* Adverse effects of antipsychotics on micro-vascular endothelial cells of the human blood-brain barrier. *Brain Res.* 2014; 1583: 255-268. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2014.08.011>. PMID: 25139421
 26. *Bashirova A.R., Sundukov D.V., Golubev A.M.* Morfofunktsionalnye patologicheskie izmeneniya golovnoy mozga pri smertelnykh otravleniyakh azaleptinom i etilovym alkogolem. [Pathological morphofunctional changes in the brain during fatal intoxications with aza-leptin and ethanol]. *Meditinskaya Ekspertiza i Pravo*. 2013; 4: 35-36. [In Russ.]
 27. *Arias S.A., Cohen P., Kwon J.S.* Clozapine-induced lymphocytic alveolitis. *Am. J. Psychiatry*. 2011; 168 (2): 210-211. <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.2010.10101494>. PMID: 21297049
 28. *Lewis A., Gibbs A., Hope-Gill B.* Probable occupational pneumonitis caused by inhalation of crushed clozapine. *Occup. Med. (Lond.)*. 2012; 62 (5): 385-387. <http://dx.doi.org/10.1093/occmed/kqs041>. PMID: 22638645
 29. *Ilyashenko K.K., Luzhnikov E.A.* Toksicheskoe porazhenie dykhatelnoi sistemy pri ostrykh otravleniyakh. [Toxic lesion of the respiratory system in acute poisonings]. Moscow: MEDPRAKTIKA; 2004: 175. [In Russ.]
 30. *Kagan V.E., Orlov V.N., Prilipko L.I.* Problema analiza endogennykh produktov perekisnogo okisleniya lipidov. [A problem in the analysis of endogenous lipid peroxidation products]. Moscow; 1986: 136. [In Russ.]
 31. *Oyewumi L.K., Cernovsky Z.Z., Freeman D.J., Streiner D.L.* Relation of blood counts during clozapine treatment to serum concentrations of clozapine and nor-clozapine. *Can. J. Psychiatry*. 2002; 47 (3): 257-261. PMID: 11987477
- Submitted 18.04.2015**