

Характеристика общепатологических процессов в легких при отравлении клозапином

О. Л. Романова¹, Д. В. Сундуков¹, А. М. Голубев^{1,2}, М. Л. Благоднравов¹, М. А. Голубев³

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

² НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

³ Корпорация «Медицинские электронные данные»,
Россия, 107045, г. Москва, Сретенский тупик, д. 4

Characteristics of General Pathological Processes in the Lungs Following Clozapine Poisoning

Olga L. Romanova¹, Dmitry V. Sundukov¹, Arkady M. Golubev^{1,2},
Mikhail L. Blagodnpravov¹, Mikhail A. Golubev³

¹ Peoples' Friendship University of Russia,
6 Miklukho-Maclaya, Moscow 117198, Russia

² 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

³ Corporation «Medical electronic data»,
4 Sretensky tupik, Moscow 107045, Russia

Цель исследования: изучение общепатологических процессов в легких в различные сроки после острых отравлений клозапином и его сочетанием с этанолом.

Материалы и методы. Эксперименты проводились на 25-и беспородных крысах-самцах в возрасте 20 недель массой 290–350 г. Животные были разделены на 5 групп: интактные крысы — контрольная группа 1; крысы, выведенные из эксперимента через 3 и 24 часа после отравления клозапином — группы 2, 3 соответственно; крысы, выведенные из эксперимента через 3 и 24 часа после отравления клозапином в сочетании с этанолом — группы 4, 5 соответственно. Клозапин вводили перорально в дозе 150 миллиграмм на килограмм массы животного под наркозом (хлоролаза), спирт вводили с клозапином перорально в дозе 5 миллилитров на килограмм массы животного.

Животные всех вышеуказанных групп выводились из эксперимента путем декапитации. Образцы ткани легких исследовались методом световой микроскопии на микроскопе Nikon Eclipse E-400 с видеосистемой на основе камеры Watec 221S (Япония) при увеличении ×400.

Оценивалось наличие следующих признаков: расстройства кровообращения (полнокровие, кровоизлияния), наличие ателектазов и дистелектазов, наличие эмфиземы, клеточной реакции (увеличение числа лейкоцитов), слущивание эпителия в просвет бронхов, наличие сладжа. Морфометрический анализ проводили с использованием сетки Г.Г. Автандилова. Оценивали (в объемных процентах, об.%) содержание площади альвеол, межальвеолярных перегородок, сосудов, лейкоцитов, долю лейкоцитов в межальвеолярных перегородках, площадь, занятую отеком и дистелектазами.

Результаты. Через 3 часа после отравления клозапином были выявлены следующие морфологические изменения в легких: слущивание эпителия в просвет бронхов, клеточная реакция — увеличение числа лейкоцитов, наличие ателектазов и дистелектазов, утолщение межальвеолярных перегородок за счет отека, инфильтрация межальвеолярных перегородок лейкоцитами; через сутки после отравления отмечено наличие ателектазов и дистелектазов в паренхиме легких, а также инфильтрация лейкоцитами. В группе животных, у которых моделировали отравление клозапином в сочетании с этанолом, через 3 часа были обнаружены следующие гистологические изменения: слущивание эпителия в просвет бронхов, наличие секрета в просвете бронхов, клеточная реакция, ателектазы и дистелектазы, перивенулярные кровоизлияния, кровоизлияния в альвеолы, кровоизлияния в межальвеолярные перегородки, расширение просвета бронхов, наличие сладжа, утолщение межальвеолярных перегородок (за счет инфильтрации лейкоцитами), отслойка эндотелия в сосудах, а через сутки артериальное полнокровие, клеточную реакцию — увеличение числа лейкоцитов, ателектазы и дистелектазы, утолщение межальвеолярных перегородок.

Во всех опытных группах просвет альвеол достоверно ниже по сравнению с группой контроля, а площадь ткани межальвеолярных перегородок, напротив, достоверно выше. Суммарная площадь микрососудов легких не имеет достоверных отличий от контроля через 3 часа после отравления клозапином. Однако че-

Адрес для корреспонденции:

Ольга Романова
E-mail: olgpharm@ya.ru

Correspondence to:

Olga Romanova
E-mail: olgpharm@ya.ru

рез 24 часа она становится достоверно больше. Также отмечается достоверное увеличение данного показателя относительно контроля при сочетании клозапина с этанолом, причем как через 3, так и через 24 часа после введения данных веществ в организм животных.

Заключение. При отравлении клозапином и его сочетанием с этанолом развивается комплекс общепатологических процессов в легких: альтерация эпителия бронхов и эндотелия сосудов, расстройство кровообращения, повышение проницаемости сосудов, инфильтрация межальвеолярных перегородок. Морфологические и иммунореактивные изменения могут быть использованы для оценки степени выраженности общепатологических процессов при отравлении клозапином и его сочетанием с этанолом и установления срока их давности.

Ключевые слова: клозапин; этанол; общепатологические процессы в легких; морфометрический анализ; криминальные отравления

The aim of the study: to study general pathological processes in the lungs in different time after acute clozapine and combined clozapine+ethanol poisonings.

Materials and methods. The experiments were performed on 25 outbred male rats. The animals were divided into 5 groups: 1) reference (intact rats); 2) clozapine poisoning, 3 hours; 3) clozapine poisoning, 24 hours; 4) combined clozapine and ethanol poisoning, 3 hours; 5) combined clozapine and ethanol poisoning, 24 hours. Clozapine was administered orally at a dosage of 150 milligrams per kilogram of the animal weight under anesthesia (chloralase); alcohol was administered with clozapine orally at a dosage of 5 milliliters per kilogram of the animal weight.

Animals of all these groups sacrificed by decapitation. Lung tissue samples were examined by light microscopy using a microscope Nikon Eclipse E-400 with a video system based on camera Watec 221S (Japan) at a 400× magnification.

We evaluated the presence of the following signs: circulatory disturbances (hyperemia, hemorrhage), presence of atelectasis and dystelectasis, emphysema, cellular response (increased white blood cells count), desquamation of epithelium into the lumen of the bronchi, sludge. A morphometric analysis was performed using a grid developed by G. G. Avtandilov. The following signs were evaluated (volume percent, vol.%): the area of the alveoli, intraalveolar septi, vessels, white blood cells, the percentage of white blood cells in the intraalveolar septi, the area of the edema and dystelectasis.

Results. the following histologic signs were found 3 hours after clozapine poisoning: desquamation of epithelium into the lumen of the bronchi; cellular response (increased white blood cells count); presence of atelectasis and dystelectasis; thickening of intraalveolar septi due to edema; infiltration of intraalveolar septi by WBCs. Atelectasis and dystelectasis in pulmonary parenchyma and infiltration with WBC were observed 24 hours after clozapine poisoning. In the group of animals treated with ethanol and clozapine and decapitated 3 hours after the poisoning the following histological signs were detected: desquamation of epithelium into the lumen of the bronchi, the secret in the lumen of the bronchi, cellular response, atelectasis and dystelectasis, perivascular hemorrhages, hemorrhages into the alveoli, hemorrhages into intraalveolar septi, dilation of the lumen of the bronchi, the presence of sludge, thickening of intraalveolar septi (due to infiltration with WBCs, detachment of the endothelium in blood vessels. Arterial hyperemia, cellular response (increased of WBC count), atelectasis and dystelectasis, and thickening of intraalveolar septi were found 24 hours after combined ethanol and clozapine poisoning.

In all study groups the lumen of the alveoli was significantly smaller as compared to the reference group, but the area of the intraalveolar tissue, on the contrary, was significantly greater. The total area of pulmonary microvessels did not differ significantly from the reference group 3 hours after clozapine poisoning. It became significantly higher 24 hours after the poisoning. A significant increase in this parameter vs. the reference group was found both 3 and 24 hours after the administration of the combination of clozapine with ethanol by animals.

Conclusion. In clozapine and clozapine + ethanol poisoning, a certain complex of general pathological processes in lungs develops. There are alteration of bronchial epithelium and the vascular endothelium, circulatory disorder, increased vascular permeability, infiltration of intraalveolar septis. Morphological and immunoreactive changes can be used for valuation of severity of general pathological process in acute clozapine and clozapine + ethanol poisonings and determination of the exact time of the poisonings.

Keywords: clozapine; ethanol; general pathological processes in the lungs; morphometric analysis; criminal poisonings

DOI:10.15360/1813-9779-2017-4-22-29

Введение

Острые отравления психотропными лекарственными препаратами по-прежнему представляют собой одну из серьезнейших проблем современного здравоохранения [1–4]. В частности, в последние годы в России было зафиксировано значительное число отравлений атипичным ней-

Introduction

Acute poisonings with psychotropic drugs remains the one of the greatest challenges of modern healthcare [1–4]. Particularly, a great number of poisonings with an atypical neuroleptic clozapine (leponex, azaleptin, clozaril etc.) was observed in Russia over the previous years. The peak number of such poi-

ролептиком — клозапином (лепонекс, азалептин, клозарил и т.д.). Пик этих отравлений пришелся на 2006—2009 гг., однако, позже был отмечен некоторый спад в связи с усилением контроля за отпуском этого препарата из аптек.

Летальность при отравлении клозапином достаточно высока и составляет, по данным российских авторов, 12—18% [5—8], по данным зарубежных авторов — 10% [9—11]. При одновременном приеме клозапина с этанолом, что также часто встречается в судебно-медицинской практике, отмечается возрастание тяжести супрессивного действия клозапина на человеческий организм. Такие отравления характеризуются еще более высокой летальностью (30%) [12].

Клинические проявления отравлений клозапином характеризуются глубоким угнетением функций центральной нервной системы, степень выраженности которого зависит от концентрации препарата в крови [13—17]. При пороговых значениях отмечается вялость, сонливость, адинамия, в то время как при критических и смертельных — коматозное состояние различной глубины, нарушение функции внешнего дыхания, (нередко требующее проведения ИВЛ), нестабильность гемодинамики, обусловленная малым сердечным выбросом. Коматозному состоянию могут предшествовать спутанность сознания, зрительные галлюцинации, психомоторное возбуждение, гиперсаливация [18, 19].

В силу своей неочевидности, все случаи, подозрительные на отравление клозапином, подлежат судебно-медицинскому исследованию [20]. Вместе с тем, судебно-медицинская диагностика отравлений этим препаратом до настоящего времени затруднена. Обычно установление диагноза в таких ситуациях 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 в основном дисциркуляторными расстройствами и дистрофическими изменениями паренхиматозных органов [21].

Согласно данным литературы, клозапин и его метаболиты накапливаются в легких [22—24]. Встречаются лишь отдельные работы зарубежных авторов, в которых приводятся данные о патологических изменениях в легких при отравлении клозапином. Например, сообщается о развитии лимфоцитарного альвеолита, предположительно связанного с систематическим применением клозапина [25]. Описан случай развития интерстициальной пневмонии у пациента, работавшего в производственном отделе аптеки и контактировавшего с порошком клозапина в течение нескольких лет [26].

sonings was observed in 2006—2009, however, a slight decrease was observed later due to increased surveillance over the drug dispensing from pharmacies.

The mortality rate due to clozapine poisonings is high and reaches 12—18% and 10% according to Russian [5—8] and international authors, respectively [9—11]. In case of simultaneous administration of clozapine and ethanol, which is often observed in forensic practice, the severity of suppressive effect on the human organism even increases. Such poisonings are characterized by a higher mortality rate (30%) [12].

Clinical manifestations of clozapine poisonings are characterized by severe depression of central nervous system functions, the severity of which depends on the drug concentration in blood [13—17]. At threshold concentrations lethargy, drowsiness, adynamy are present, while in critical and fatal concentrations there may be coma of various depth, impairment of external respiration function (often requiring mechanical ventilation), hemodynamic instability due to low cardiac output. Coma may be preceded by confusion, visual hallucinations, agitation, and hypersalivation [18, 19].

All the cases suspicious for poisoning clozapine are subject to forensic examination because of their non-obviousness [20]. However, forensic medical diagnosis of poisonings with this drug is still challenging. A complex diagnostics including clinical-anamnesic, sectional, histological, biochemical data, and quantitative measurement of clozapine in body fluids is usually performed. Morphological changes in case of clozapine intoxications are not specific and include mainly discirculatory disorders and degenerative changes in parenchymatous organs [21].

According to the literary data, clozapine and its metabolites accumulate in the lungs [22—24]. There are several studies describing pathological changes in the lungs in clozapine poisonings. For example, a case of lymphocytic alveolitis, presumably associated with systematic use of clozapine [25] and a case of pneumonia in a patient who worked in the pharmacy production department and was exposed to clozapine powder for several years were reported [26].

Thus, morphological changes in the lung were studied presumably at late stages of the pathological process. At the same time, the features of the morphological changes in the lung at early stages remain unclear, which makes it impossible to speak about the mechanisms of their development and to establish the time and the sequence of their occurrence.

Aim — to study general pathological processes in the lungs in different time after acute clozapine and combined clozapine+ethanol poisonings.

Materials and Methods

The experiments were performed on 25 outbred male rats aged 20 weeks and weighting 290—350 g. The animals were divided into 5 groups:

Таким образом, морфологические изменения в легких изучены в основном на поздних стадиях развития патологического процесса. В то же время особенности морфологических изменений легких на ранних стадиях изучены недостаточно, что не дает возможности со всей определенностью высказаться о механизмах развития патологических изменений легких и установить сроки и последовательность их возникновения.

Цель исследования — изучение общепатологических процессов в легких в различные сроки после острых отравлений клозапином и его сочетанием с этанолом.

Материал и методы

Эксперименты проводили на 25-и беспородных крысах-самцах возраста 20 нед. массой 290–350 г. Животных разделили на 5 групп: интактные крысы — контрольная группа 1; крысы, выведенные из эксперимента через 3 и 24 часа после отравления клозапином — группы 2, 3 соответственно; крысы, выведенные из эксперимента через 3 и 24 часа после отравления клозапином в сочетании с этанолом — группы 4, 5 соответственно.

Клозапин вводили перорально в дозе 150 миллиграмм на килограмм массы животного под наркозом (хлоролаза); спирт вводили с клозапином перорально в дозе 5 миллилитров на килограмм массы животного.

Животных всех вышеуказанных групп выводили из эксперимента путем декапитации. Образцы ткани легких фиксировались в 4% нейтральном параформальдегиде и далее обрабатывали по общепринятой методике. Изготавливали гистологические срезы толщиной 5 мкм, наносили на предметные стекла и окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты исследовали методом световой микроскопии в 10 полях зрения на микроскопе Nikon Eclipse E-400 с видеосистемой на основе камеры Watec 221S (Япония) при увеличении 400×.

Оценивали наличие следующих признаков: расстройства кровообращения (полнокровие, кровоизлияния), наличие ателектазов и дистелектазов, наличие эмфиземы, клеточной реакции (увеличение числа лейкоцитов), слущивание эпителия в просвет бронхов, наличие сладжа. Для подтверждения достоверности появления того или иного гистологического признака пользовались критерием Фишера. Появление признака считали достоверным, если он не выявлялся ни в одном случае в одной из групп и появлялся в четырех или пяти случаях в другой.

Морфометрический анализ проводили с использованием сетки Г. Г. Автандилова. Оценивали в объемных процентах (об. %) следующие показатели: просвет альвеол, межальвеолярные перегородки, сосуды, лейкоциты, долю лейкоцитов в межальвеолярных перегородках, площадь, занятую отеком и дистелектазами.

Содержание животных и работу с ними проводили в соответствии с приказом Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г. и Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986 г.).

- 1) reference (intact rats);
- 2) clozapine poisoning, 3 hours;
- 3) clozapine poisoning, 24 hours;
- 4) combined clozapine and ethanol poisoning, 3 hours;
- 5) combined clozapine and ethanol poisoning, 24 hours.

Clozapine was administered orally at a dosage of 150 milligrams per kilogram of the animal weight under anesthesia (chlorolase); alcohol was administered with clozapine orally at a dosage of 5 milliliters per kilogram of the animal weight.

Animals of all these groups sacrificed by decapitation. The samples of lung tissue were fixed in 4% neutral paraformaldehyde and then processed using a standard technique. 5 μm thick histological slides were prepared; they were placed onto microscope slides and stained with hematoxylin and eosin. The slides were examined by light microscopy in 10 viewing fields using a microscope Nikon Eclipse E-400 with a video system based on camera Watec 221S (Japan) at 400× magnification.

We evaluated the presence of the following signs: circulatory disturbances (hyperemia, hemorrhage), presence of atelectasis and dystelectasis, emphysema, cellular response (increased white blood cell count), desquamation of epithelium into the lumen of the bronchi, sludge. To confirm the significance of the occurrence of histological characteristics, Fisher's ratio test was used. The presence of a sign was considered significant, if it was not detected in any case in one of the groups and appeared in four or five cases in the other.

A morphometric analysis was performed using a grid suggested by G. G. Avtandilov. The following signs were evaluated (volume percent, vol. %): the area of the alveoli, intraalveolar septi, vessels, white blood cells, the percentage of white blood cells in the intraalveolar septi, the area of the edema and dystelectasis.

The animals were kept and handled in accordance to the Order No. 755 of the Ministry of Health of the USSR as of 12.08.1977 and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (Strasbourg, 18.03.1986).

The statistical data processing was conducted using the MS Excel software. The mean value and the standard error of the mean were calculated. To determine the significance of the data, the Mann-Whitney U-test was used (the data were considered significant at $P \leq 0.05$).

Results and Discussion

No pathological changes were observed in the lungs of the animals from the reference group (Fig. 1, a).

Three hours after clozapine intoxication the following histologic signs were detected:

- Desquamation of epithelium into the lumen of the bronchi (Fig. 1, b).
- Cellular response: increased count of lymphocytes, WBC (segmented neutrophils) in intraalveolar septis.
- Presence of atelectasis and dystelectasis.
- Thickening of intraalveolar septi due to edema.

There were observed atelectasis and dystelectasis in the lungs and infiltration of intraalveolar septis with WBC 24 hours after poisoning with clozapine.

Experimental Studies

Статистическую обработку результатов исследования проводили в программе MS Excel. Вычисляли среднее значение, ошибку среднего. Для определения достоверности полученных данных применяли U-критерий Манна-Уитни (за достоверность принимали разность средних при $p \leq 0,05$).

Результаты и обсуждение

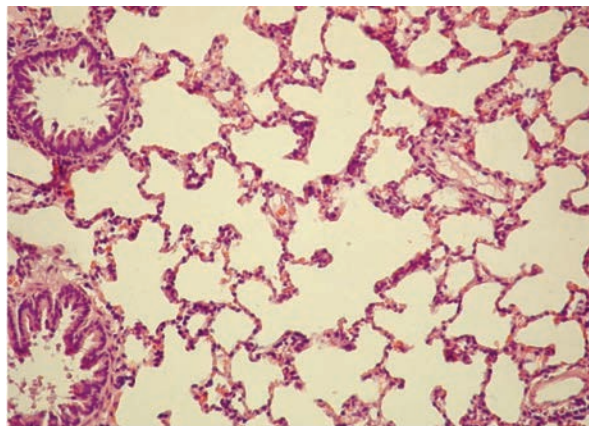
В группе контроля патологических изменений в легких животных не выявили (рис. 1, *a*).

Через 3 часа после отравления клозапином выявили следующие морфологические изменения в легких:

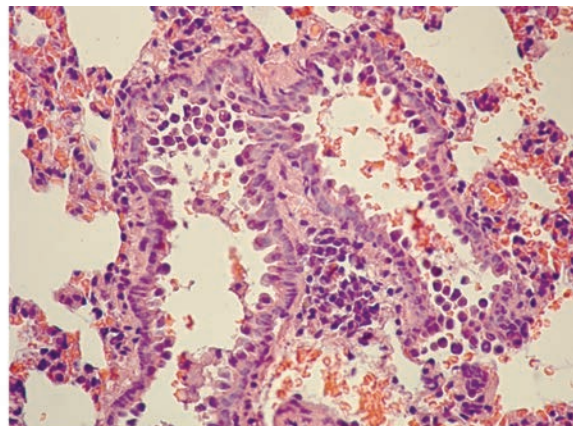
- Слущивание эпителия в просвет бронхов (рис. 1, *b*);

In the group of animals treated with ethanol and clozapine and decapitated 3 hours after the poisoning the following histological signs were detected:

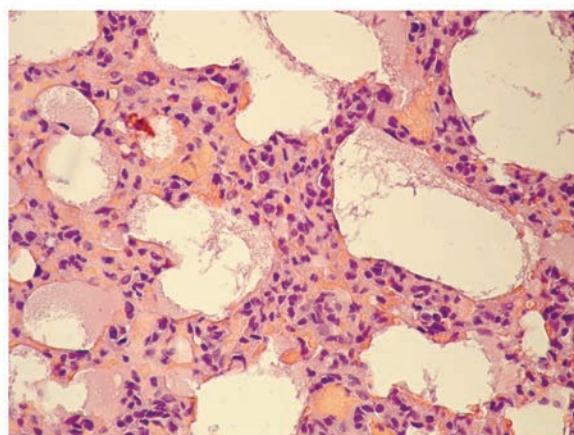
- Desquamation of epithelium into the lumen of the bronchi.
- The secret in the lumen of the bronchi.
- Cellular response.
- Atelectasis and dystelectasis.
- Perivenular hemorrhages.
- Hemorrhages into the alveoli.
- Hemorrhages into intraalveolar septi.
- Dilatation of the lumen of the bronchi.
- The presence of sludge.
- Thickening of intraalveolar septi (due to infiltration with WBCs).



a. Reference group



b. 3 hours after clozapine poisoning



c. 24 hours after clozapine+ethanol poisoning

Препарат легкого крысы.

Rat's lung tissue samples.

Note. Magnification: $\times 400$. Hematoxylin and eosin stain.

a: No pathological changes are observed. *b*: Desquamation of epithelium into the lumen of the bronchi. *c*: Cellular response (increased WBC count), thickening of intraalveolar septi.

Примечание. Ув. $\times 400$; окраска гематоксилином и эозином. *a*: Группа контроля — патологические изменения отсутствуют. *b*: 3 часа после отравления клозапином — слущивание эпителия в просвет бронхов. *c*: 24 часа после отравления клозапином+этанолом — клеточная реакция (увеличение числа лейкоцитов), утолщение межальвеолярных перегородок.

- Клеточная реакция: увеличение числа лимфоцитов, сегментоядерных лейкоцитов в межальвеолярных перегородках;

- Наличие ателектазов и дистелектазов;
- Утолщение межальвеолярных перегородок за счет отека.

После отравления клозапином через 24 часа отмечается наличие ателектазов и дистелектазов в легких, а также инфильтрация межальвеолярных перегородок лейкоцитами.

В группе животных, у которых моделировании отравление клозапином в сочетании с этанолом, через 3 часа обнаружили следующие гистологические изменения:

- Слизивание эпителия в просвет бронхов;
- Наличие секрета в просвете бронхов;
- Клеточная реакция;
- Ателектазы и дистелектазы;
- Перивенулярные кровоизлияния;
- Кровоизлияния в альвеолы;
- Кровоизлияния в межальвеолярные перегородки;

- Расширение просвета бронхов;
- Наличие сладжа;
- Утолщение межальвеолярных перегородок (за счет инфильтрации лейкоцитами);

- Отслойка эндотелия в сосудах.

Через 24 часа после сочетанного воздействия клозапина и этанола достоверным считали наличие следующих гистологических изменений:

- Артериальное полнокровие;
- Клеточная реакция (рис. 1, с);
- Ателектазы и дистелектазы.

Результаты морфометрического анализа представили в таблице.

Из таблицы видно, что во всех опытных группах просвет альвеол достоверно ниже по сравнению с группой контроля, а площадь ткани межальвеолярных перегородок, напротив, достоверно выше.

- Detachment of the endothelium in blood vessels.

24 hours after a combined ethanol and clozapine poisoning the following histological changes can be considered reliable:

- Arterial hyperemia.
- Cellular response (Fig. 1, c).
- Atelectasis and dystelectasis.

The results of the morphometric analysis (table) demonstrate that in all study groups the lumen of the alveoli was significantly smaller as compared to the reference group, but the area of the intraalveolar tissue, on the contrary, was significantly greater.

The total area of pulmonary microvessels did not differ significantly from the reference group 3 hours after clozapine poisoning. But it is significantly higher 24 hours after the poisoning. A significant increase in this parameter was found vs. the reference group both 3 and 24 hours after the administration of the combination of clozapine with ethanol by animals.

The WBC count estimated by their area in intraalveolar septi tissue was considerably higher in all study groups than in the reference group. A significant increase in the area of dystelectasis was found 24 after clozapine and 3 and 24 hours after clozapine and ethanol intoxication.

Lung perivascular edema, plethora and hemorrhages were observed in the groups of animals treated with clozapine and a combination of clozapine and ethanol. These disorders may occur due to increased permeability of microcirculatory vessels caused by hypoxia of a combined etiology. The destruction of epithelium observed in clozapine and clozapine-ethanol intoxication occurred due to direct toxic effects of clozapine on epithelium cells which was accompanied by the increase of lipid peroxidation and impairment of antioxidant defense system of blood [27, 28].

Морфометрический анализ гистологических срезов. Morphometric analysis of histological slides.

Parameters	Values of parameters in groups				
	reference	clozapine		clozapine+ethanol	
	1 st	2 nd	3 ^d	4 th	5 th
The lumen of the alveoli, vol.%	65.82±0.57	40.28±0.88*	33.01±0.88*	37.92±0.93*	34.07±0.89*
The tissue (intraalveolar septi), vol.%	23.97±0.43	49.36±0.69*	54.21±0.78*	47.84±0.82*	51.04±0.89*
Vessels, vol.%	5.04±0.23	5.47±0.16	7.05±0.27*	8.91±0.31*	9.07±1.09*
WBC, vol.%,	2.78±0.09	12.12±0.23*	12.16±0.27*	13.11±0.30*	8.59±0.19*
The volume share of WBC in the tissue	11.74±0.31	25.42±0.44*	23.15±0.44*	27.53±0.51*	18.72±1.90*
Dystelectasis, vol.%	0.027±0.027	0	4.80±0.23*	2.52±0.16*	3.21±0.16*
Edema, vol.%	0.027±0.027	5.92±0.23*	5.36±0.31*	4.09±0.19*	5.36±0.28*

Note. * – The parameters that significantly differ from the reference group 1 at $P \leq 0.05$.

Примечание. Parameters – параметры; Values of parameters in groups – значения параметров в группах; The lumen of the alveoli, vol.% – просвет альвеол, об.%; The tissue (intraalveolar septi) – ткань (межальвеолярные перегородки); Vessels – сосуды; WBC – лейкоциты; The volume share of WBC in the tissue – объемная доля лейкоцитов в ткани; Dystelectasis – дистелектазы; Edema – отек. * – показатели, достоверно отличающиеся от контрольной группы 1 при $p \leq 0,05$.

Через 3 часа после отравления клозапином суммарная площадь микрососудов легких не имеет достоверных отличий от контроля. Однако через 24 часа она становится достоверно больше. Через 3 и 24 часа после введения в организм животных клозапина с этанолом также отметили достоверное увеличение данного показателя относительно контроля.

Количество лейкоцитов, оцениваемое по площади, занимаемой ими в ткани межальвеолярных перегородок, было достоверно выше во всех опытных группах по сравнению с контрольной. Через 24 часа после отравления клозапином, а также через 3 и 24 часа при сочетанном воздействии клозапина с этанолом, отметили увеличение площади дистелектазов.

Появление в легких периваскулярных отеков, полнокровия и кровоизлияний наблюдали в группах животных, изолированно получавших клозапин, и комбинацию клозапина и этанола. Можно предположить, что это обусловлено повышением проницаемости сосудов микроциркуляторного русла, в том числе гипоксией комбинированного генеза. Наблюдаемое при изолированном введении клозапина и комбинированном введении клозапина и этанола повреждение эпителия, по всей видимости, обусловлено непосредственным токсическим влиянием клозапина на клетки эпителия, сопровождающимся усилением процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) и нарушением антиоксидантной системы защиты крови [27, 28].

Известно, что 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 блока-

It is known that the increase of lipid peroxidation intensity and the development of oxidative stress cause result in enhancement of degenerative processes, damage of the bronchial epithelium and loss of its barrier function. Increased aggregation activity of RBCs and platelets observed in clozapine poisoning and combined poisoning with ethanol and clozapine occurred presumably due to blockade of 5-HT₃ receptors in platelets, according to published data [14, 15, 29].

Conclusion

In clozapine and clozapine + ethanol poisoning, a certain complex of general pathological processes in lungs develops. There are alteration of bronchial epithelium and the vascular endothelium, circulatory disorder, increased vascular permeability, infiltration of intraalveolar septis. Morphological and immunoreactive changes can be used for valuation of severity of general pathological process in acute clozapine and clozapine + ethanol poisonings and determination of the exact time of the poisonings.

дой 5-HT₃ рецепторов в тромбоцитах, что согласуется с рядом литературных данных [14, 15, 29].

Заклучение

При отравлении клозапином и его сочетании с этанолом развивается комплекс общепатологических процессов в легких: альтерация эпителия бронхов и эндотелия сосудов, расстройство кровообращения, повышение проницаемости сосудов, инфильтрация межальвеолярных перегородок. Морфологические и иммунореактивные изменения могут быть использованы для оценки степени выраженности общепатологических процессов при отравлении клозапином и его сочетанием с этанолом и установления срока их давности.

Литература

1. 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. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-2-18
2. Стопницкий А.А., Акалаев Р.Н. Интенсивная терапия больных с отравлением уксусной кислотой, осложненным развитием шока. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (2): 18-22. DOI: 10.15360/1813-9779-2014-2-18-22
3. 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. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-3-35
4. Ливанов Г.А., Батоцыренов Б.В., Васильев С.А., Андрианов А.Ю., Баранов Д.В., Неженцева И.В. Окислительный дистресс и его коррекция реамберинум у больных с острым отравлением смесью психотропных веществ. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (5): 18-23. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-5-18
5. Лоладзе А.Т., Ливанов Г.А., Батоцыренов Б.В., Коваленко А.Л., Лодыгина А.Н., Глушков С.И., Баранов Д.В., Антонова А.М., Харитонова Т.В. Острые отравления диацетилморфином (героином) (обзор).

References

1. 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. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-2-18. [In Russ., In Engl.]
2. 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. DOI: 10.15360/1813-9779-2014-2-18-22. [In Russ., In Engl.]
3. Livanov G.A., Batotsyrenov B.V., Ostapenko Yu.N., Shestova G.V., Rutkovskiy G.V., Malygin A.Yu. Acute severe thallium poisoning: early diagnosis and treatment. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2013; 9 (3): 35-40. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-3-35. [In Russ., In Engl.]
4. 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. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-5-18. [In Russ., In Engl.]
5. Loladze A.T., Livanov G.A., Batotsyrenov B.V., Kovalenko A.L., Lodygina A.N., Glushkov S.I., Baranov D.V., Antonova A.M., Kharitonova T.V.

- Общая реаниматология. 2016; 12 (6): 64-81. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-6-64-81
6. Слюндин Д.Г., Ливанов А.С., Анучин В.В., Меркин А.Г., Бобринская И.Г., Тутова Е.В. Криминальные отравления клозапином. *Анестезиология и реаниматология*. 2007; 4: 61-64. PMID: 17929492
 7. Ильяшенко К.К., Лужников Е.А., Белова М.В., Ермохина Т.В., Лисовик Ж.А., Карева М.В., Ельков А.Н., Зимина Л.Н., Баринаева М.В. Особенности острых отравлений клозапином. *Токсикол. вестник*. 2009; 2: 2-5.
 8. 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
 9. Flanagan R.J. Fatal toxicity of drugs used in psychiatry. *Hum. Psychopharmacol.* 2008; 23 (Suppl 1): 43-51. DOI: 10.1002/hup.916. PMID: 18098225
 10. 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. DOI: 10.1093/jat/16.1.54. PMID: 1640699
 11. Welber M.R., Newin S. Clozapine overdose: a case report. *J. Emerg. Med.* 1995; 13 (2): 199-202. DOI: 10.1016/0736-4679(94)00143-X. PMID: 7775791
 12. 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.
 13. Kervin R.W. Clozapine: back to future for schizophrenia research. *Lancet*. 1995; 345 (8957): 1063-1064. DOI: 10.1016/S0140-6736(95)90811-0. PMID: 7715333
 14. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. 21-е изд. М.: АстраФармСервис; 2014: 8.
 15. Машковский М.Д. Лекарственные средства. 16-е изд. М.: Новая волна; 2014: 73-74.
 16. Perry P.J., Miller D.D., Arndt S.V., Cadoret R.J. Clozapine and norclozapine plasma concentrations and clinical response of treatment-refractory schizophrenic patients. *Am. J. Psychiatry*. 1991; 148 (2): 231-235. DOI: 10.1176/ajp.148.2.231. PMID: 1670979
 17. Worm K., Kringsholm B., Steentoft A. Clozapine cases with fatal, toxic or therapeutic concentrations. *Int. J. Legal Medicine*. 1993; 106 (3): 115-118. DOI: 10.1007/BF01225229. PMID: 8117587
 18. Мурхазанов Р.А. Клинические аспекты отравления клозапином. *Акт. вопросы внутр. болезней*. 2000; 24: 252.
 19. 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
 20. Ackenheil M. Clozapine — pharmacokinetic investigations and biochemical effects in man. *Psychopharmacology (Berl.)*. 1989; 99 Suppl: S32-S37. DOI: 10.1007/BF00442556. PMID: 2682731
 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. Голубев А.М., Сундуков Д.В., Романова О.Л. Оценка морфологических изменений в легких при острых отравлениях клозапином, этиловым алкоголем и их сочетанием. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (4): 6-13. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-4-6-13
 23. 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
 24. 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. DOI: 10.1093/jat/16.1.54. PMID: 1640699
 25. Arias S.A., Cohen P., Kwon J.S. Clozapine-induced lymphocytic alveolitis. *Am. J. Psychiatry*. 2011; 168 (2): 210-211. DOI: 10.1176/appi.ajp.2010.10101494. PMID: 21297049
 26. Lewis A., Gibbs A., Hope-Gill B. Probable occupational pneumonitis caused by inhalation of crushed clozapine. *Occup. Med. (Lond.)*. 2012; 62 (5): 385-387. DOI: 10.1093/occmed/kqs041. PMID: 22638645
 27. Ильяшенко К.К., Лужников Е.А. Токсическое поражение дыхательной системы при острых отравлениях. М.: МЕДПРАКТИКА; 2004: 175.
 28. Казан В.Е., Орлов В.Н., Прилупко Л.И. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. *Итоги науки и техники. Серия «Биофизика»*. 1986; 18: 136.
 29. 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. DOI: 10.1177/070674370204700306. PMID: 11987477
 - Acute diacetylmorphine (heroin) intoxication (review). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2016; 12 (6): 64-81. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-6-64-81. [In Russ., In Engl.]
 6. Slyundin D.G., Livanov A.S., Anuchin V.V., Bobrinskaya I.G., Gutova E.V. Criminal clozapine intoxications. *Anesteziology i Reanimatologiya*. 2007; 4: 61-64. PMID: 17929492. [In Russ.]
 7. Ilyashenko K.K., Luzhnikov E.A., Belova M.V., Ermokhina T.V., Lisovik Zh.A., Kareva M.V., Elkov A.N., Zimina L.N., Barinova M.V. Features of acute poisonings by Clozapine. *Toksikologichesky Vestnik*. 2009; 2: 2-5. [In Russ.]
 8. Ermokhina T.V., Luzhnikov E.A., Ilyashenko K.K. Geriatric aspects of diagnosis and treatment of psychotropic agent poisonings. *Anesteziology i Reanimatologiya*. 2008; 6: 37-39. PMID: 19227292. [In Russ.]
 9. Flanagan R.J. Fatal toxicity of drugs used in psychiatry. *Hum. Psychopharmacol.* 2008; 23 (Suppl 1): 43-51. DOI: 10.1002/hup.916. PMID: 18098225
 10. 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. DOI: 10.1093/jat/16.1.54. PMID: 1640699
 11. Welber M.R., Newin S. Clozapine overdose: a case report. *J. Emerg. Med.* 1995; 13 (2): 199-202. DOI: 10.1016/0736-4679(94)00143-X. PMID: 7775791
 12. Bashirova A.R., Sundukov D.V., Golubev A.M. Morphofunctional pathological changes in the brain in case of fatal poisoning with azaleptin and ethyl alcohol. *Meditsinskaya Ekspertiza i Pravo*. 2013; 4: 35-36. [In Russ.]
 13. Kervin R.W. Clozapine: back to future for schizophrenia research. *Lancet*. 1995; 345 (8957): 1063-1064. DOI: 10.1016/S0140-6736(95)90811-0. PMID: 7715333
 14. VIDAL directory. Medicines in Russia. 21st ed. Moscow: AstraFarmServis; 2014: 8. [In Russ.]
 15. Mashkovskiy M.D. Medicinal products. 16th ed. Moscow: Novaya Volna; 2014: 73-74. [In Russ.]
 16. Perry P.J., Miller D.D., Arndt S.V., Cadoret R.J. Clozapine and norclozapine plasma concentrations and clinical response of treatment-refractory schizophrenic patients. *Am. J. Psychiatry*. 1991; 148 (2): 231-235. DOI: 10.1176/ajp.148.2.231. PMID: 1670979
 17. Worm K., Kringsholm B., Steentoft A. Clozapine cases with fatal, toxic or therapeutic concentrations. *Int. J. Legal Medicine*. 1993; 106 (3): 115-118. DOI: 10.1007/BF01225229. PMID: 8117587
 18. Murkhanov R.A. Clinical aspects of clozapine intoxication. *Aktualnye Voprosy Vnutrennikh Boleznei*. 2000; 24: 252. [In Russ.]
 19. 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
 20. Ackenheil M. Clozapine — pharmacokinetic investigations and biochemical effects in man. *Psychopharmacology (Berl.)*. 1989; 99 Suppl: S32-S37. DOI: 10.1007/BF00442556. PMID: 2682731
 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. Morphological aspects of acute intoxication with Azaleptin. *Sudebno-Meditsinskaya Ekspertiza*. 2008; 51 (3): 8-10. PMID: 18589664. [In Russ.]
 22. 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. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-4-6-13. [In Russ., In Engl.]
 23. 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
 24. 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. DOI: 10.1093/jat/16.1.54. PMID: 1640699
 25. Arias S.A., Cohen P., Kwon J.S. Clozapine-induced lymphocytic alveolitis. *Am. J. Psychiatry*. 2011; 168 (2): 210-211. DOI: 10.1176/appi.ajp.2010.10101494. PMID: 21297049
 26. Lewis A., Gibbs A., Hope-Gill B. Probable occupational pneumonitis caused by inhalation of crushed clozapine. *Occup. Med. (Lond.)*. 2012; 62 (5): 385-387. DOI: 10.1093/occmed/kqs041. PMID: 22638645
 27. Ilyashenko K.K., Luzhnikov E.A. Toxic damage to the respiratory system in acute poisoning. Moscow: MEDPRAKTIKA; 2004: 175. [In Russ.]
 28. Kagan V.E., Orlov V.N., Prilipko L.I. The problem of analysis of endogenous products of lipid peroxidation. *Itogi Nauki i Tekhniki. Seriya «Biofizika»*. 1986; 18: 136. [In Russ.]
 29. 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. DOI: 10.1177/070674370204700306. PMID: 11987477

Received 23.05.17

Поступила 23.05.17