

*Р.У. Гиниатуллин<sup>1</sup>, В.Н. Кузьмин<sup>2</sup>*

## **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ МОРФОЛОГИЯ АПУДОЦИТОВ ГОРТАНИ ПРИ АСФИКТИЧЕСКОМ И АСПИРАЦИОННОМ ТИПАХ УТОПЛЕНИЯ В ПРЕСНОЙ ВОДЕ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, Российская Федерация;

<sup>2</sup> ООО «Уралмедрезерв», г. Челябинск, Российская Федерация

**Резюме.** *Цель исследования* — разработка дополнительных микроскопических диагностических критериев для асфиктического типа утопления на основе изучения количественной морфологии апудоцитов слизистой оболочки гортани (СОГ) у крыс. *Материалы и методы исследования:* работа выполнена на 50 нелинейных лабораторных крысах-самцах с применением гистологических, гистохимических, иммуногистохимических, морфометрических, статистических методов. *Результаты исследования:* полученные данные показали, что у животных с различной массой отмечаются возрастные особенности реагирования апудоцитов СОГ в условиях утопления. *Выводы:* 1. У молодых животных опытной группы в условиях острой аноксии выявляется значительная гиперплазия аргирофильных и морфофункциональная активность серотонинсодержащих апудоцитов СОГ по отношению к аналогичным показателям животных группы сравнения. Эти изменения способствуют развитию ларингоспазма, что препятствует проникновению воды в воздухоносные пути и легкие при асфиктическом типе утопления. 2. У половозрелых животных группы сравнения в условиях острой аноксии отмечаются менее выраженные количественные реакции аргирофильных и морфофункциональной активности серотонинсодержащих апудоцитов в СОГ. Эти изменения не сопровождаются развитием ларингоспазма, что способствует проникновению воды в воздухоносные пути и легкие при аспирационном типе утопления. 3. Наличие феномена выраженной гиперплазии аргирофильных и морфофункциональной активности серотонинсодержащих апудоцитов СОГ в условиях острой аноксии у молодых животных может быть использовано в качестве дополнительного диагностического критерия для асфиктического типа утопления при экспериментальных исследованиях.

**Ключевые слова:** крысы, утопление, СОГ, апудоциты

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Гиниатуллин Равиль Усманович

rkkom@chelsma.ru

Дата поступления: 20.06.2023

Образец цитирования:

Гиниатуллин Р.У., Кузьмин В.Н. Функциональная и количественная морфология апудоцитов гортани при асфиктическом и аспирационном типах утопления в пресной воде (экспериментальное исследование). [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2023, Том 20, № 3, с. 24–30, DOI: 10.22138/2500-0918-2023-20-3-24-30

### **Введение**

По данным доклада экспертов ВОЗ, Россия отнесена к странам с высоким показателем утопления: более 3,9 на 100000 тысяч населения в год [1].

Расширение представлений о происходящих в организме изменениях при погружении человека

в воду позволило, в зависимости от главенствующей в наступлении смерти роли патологического процесса, подразделять утопление по его патогенетическому типу на аспирационный (20%), асфиктический или спастический (35%), синкопальный или рефлекторный (10%), смешанный (35% наблюдений) [2].

Установление типов утопления, учитывающих механизм взаимодействия организма с водой, с учетом ее характера и физико-химических свойств, позволило дать более точное и расширенное определение понятия «утопление» как вида насильственной смерти, наступающей при погружении человека в воду и обусловленной острым нарушением функций жизненно важных систем организма под влиянием водной среды [2].

Известно, что одной из важных систем, обеспечивающих местный гомеостаз органов дыхания в норме и патологии, является их эндокринный аппарат [4]. При этом апудоциты ее вырабатывают биогенные амины, в частности серотонин, обеспечивающий паракринную регуляцию довольно обширного клеточного региона в подслизистой оболочке, в том числе спазм гладкомышечных волокон [4].

Наряду с этим, количественная морфология реакций апудоцитов в СОГ при различных видах утопления не изучена. По-прежнему не представляется возможным наиболее точно проводить дифференциальную диагностику «сухих» (асфиктических) типов утопления [5].

**Цель исследования** — разработка дополнительных микроскопических диагностических критериев для асфиктического типа утопления на основе изучения количественной морфологии апудоцитов СОГ у крыс.

#### **Материалы и методы исследования**

Проведен эксперимент на 50 нелинейных крысах-самцах: 2-месячного возраста, массой  $198,9 \pm 10,7$  грамма (1-я — опытная группа, 20 животных); 5-месячного возраста, массой  $489,7 \pm 12,9$  грамма (2-я — группа сравнения, 20 половозрелых животных); 3-я — контрольная группа для опытной группы ( $n = 5$ ) и 4-я — контрольная группа для группы сравнения ( $n=5$ ) аналогичного возраста и сходной массы тела соответственно. Животные содержались в условиях вивария (приказ МЗ СССР №1179 от 10.10.1983 г.) с соблюдением принципов гуманного обращения с ними (приказ МЗ СССР №755 от 12.09.77 г.) (табл. 1).

Все животные 1-й ОГ и 2-й ГС подвергались свободному утоплению в ванне [6]. Продолжительность плавания составляла у крыс 1-й ОГ в среднем  $5,82 \pm 0,72$  минуты, у крыс 2-й ГС —  $15,94 \pm 2,12$  минуты. Трупы животных обеих групп извлекали из воды через 10 минут после прекращения видимых проявлений жизни и проводили вскрытие.

Материал (гортань, легкие, грудной лимфатический проток) фиксировали в жидкости Буэна, парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а препараты гортани импрегнировали также азотнокислым серебром по методу Гримелиуса.

Идентификацию апудоцитов, содержащих серотонин, проводили с помощью иммуногистохимического метода окрашивания срезов: краситель DAB, первичные специфические для крыс антитела к серотонину АВ-1 («Sigma», клон 5 НТ-Н 209, США), вторичные антитела, меченные пероксидазой, докрашивали гематоксилином и исследовали под световым микроскопом («Leica», Германия) с применением компьютерной программы анализа цветового изображения «ImageScore М» (Россия): подсчитывали число аргирофильных апудоцитов и АПУД-клеток, содержащих серотонин на  $1 \text{ мм}^2$  площади СОГ. Степень лимфогемии в грудном лимфатическом протоке определяли по методике, описанной рядом авторов [2].

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью лицензионного пакета прикладных программ Statistica 6.0: использовались методы вариационной статистики, применялся непараметрический U-тест Манна-Уитни для суждения о достоверности различий между сравниваемыми показателями (при  $p < 0,05$ ).

Таблица 1  
 Распределение животных по экспериментальным группам  
 Table 1  
 Distribution of animals by experimental groups

Номер группы\ Number groups	Масса тела (граммы)/ Body weight (grams)	Возраст (меся- цы)/ Age (months)	Число животных/ Number of animals	Методы исследования / Methods researches
1-я ОГ, OG 3-я КГ, KG 2-я ГС, GS 4-я КГ, RG	190 – 220 180 – 215 450 – 510 445 – 515	2 5 2 5	20 5 20 5	Гистологический Гистохимический Иммуногистохимический Морфометрический /Histological Histochemical Immunohistochemical Morphometric Statistical
Итого, Total			50	

Примечание: ОГ – опытная группа; ГС – группа сравнения; КГ – контрольная группа.

Note: OG is an experimental group; KG is a control group.

### Результаты исследования и обсуждение

При вскрытии животных 1-й ОГ, погибших от асфиктического типа утопления, обращали на себя внимание следующие особенности: наличие воды в пазухе основной кости черепа (до  $2,31 \pm 0,06$  мл), острая эмфизема легких, имеющих «мраморный вид», появление пузырьков воздуха при пункции левых отделов сердца под водой (воздушная эмболия), что согласуется с данными других исследователей, изучавших случаи смерти людей от асфиктического типа утопления [2].

При обзорной микроскопии в препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, в гортани, трахее, бронхах, в артериях и артериолах отмечался спазм гладкомышечных волокон, везикулярная эмфизема; в начальном, среднем и конечном отделах грудного лимфатического протока регистрировались эритроциты, на что обратили внимание и другие авторы [2].

В гистологических препаратах, импрегнированных азотнокислым серебром по методу Гримелиуса, апудоциты открытого и закрытого типов, треугольной, веретеновидной формы темно-коричневого цвета встречались среди клеток многорядного реснитчатого эпителия (рис. 1). Сходная локализация и окраска эндокринных клеток отмечалась и при выявлении серотонинпродуцирующих апудоцитов (рис. 2).

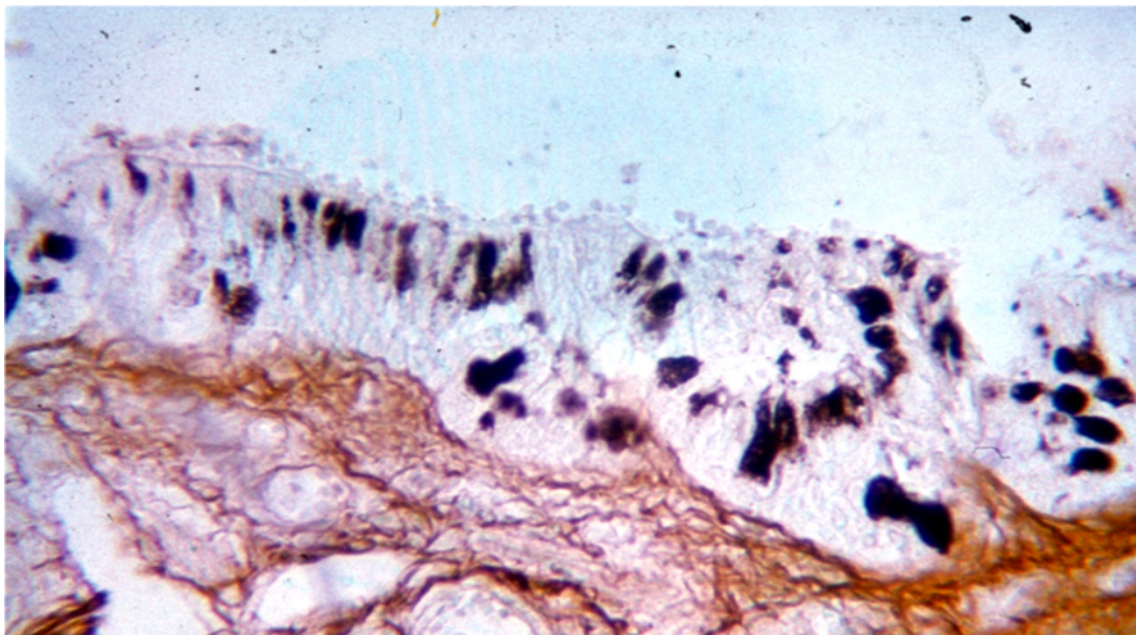


Рис. 1. Значительное количество апудоцитов, содержащих аргирофильную зернистость, в слизистой оболочке гортани..Гистохимическая реакция Гримелиуса. x 400.

Fig. 1. A significant number of apudocytes containing argyrophilic granularity in the mucous membrane of the larynx..Histochemical reaction of Grimelius. x 400.



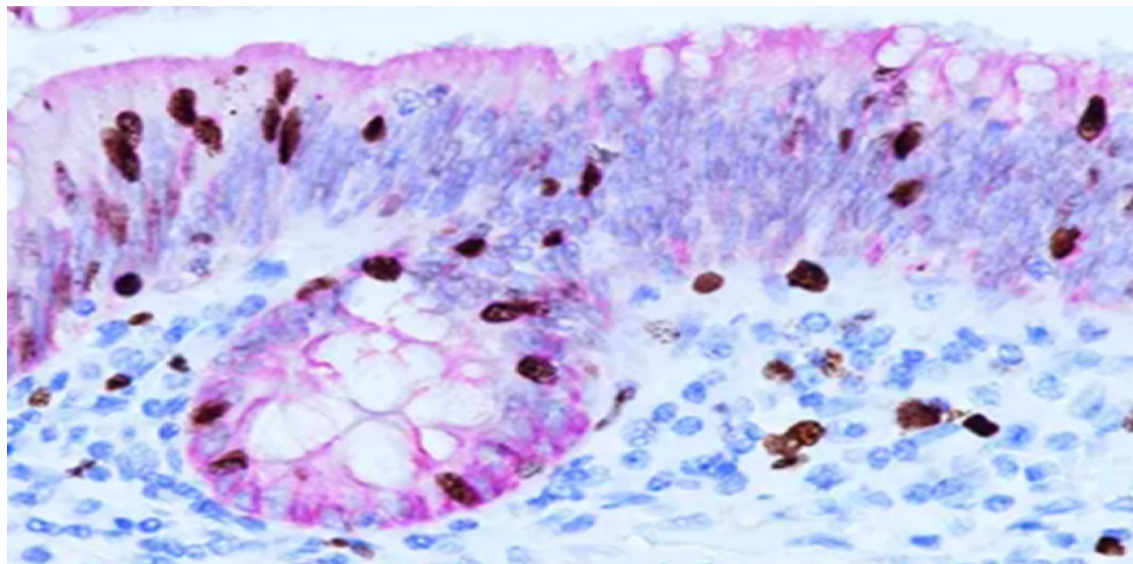


Рис. 2. Большое количество апудоцитов, содержащих серотонин, в слизистой оболочке гортани. Иммуногистохимическая реакция. x 600.

Fig. 2. A large number of apudocytes containing serotonin in the laryngeal mucosa. Immunohistochemical method. x 600.

Результаты морфометрического исследования в 1-й ОГ наблюдений показали (табл. 2), что содержание аргирофильных и серотонинпродуцирующих АПУД-клеток было достоверно больше по сравнению с 3-й КГ, ОГ, в 3-й КГ по отношению к 4-й КГ. Степень лимфогемии в грудном лимфатическом протоке составила  $2,91 \pm 0,08$  балла.

Вскрытие животных ГС свидетельствовало о смерти их от аспирационного типа утопления: наличие розоватой мелкопузырчатой пены вокруг отверстий носа и рта, в трахее и бронхах; «балонный вид» легких, субплеврально расположенные в задне-боковых поверхностях пятна Рассказова – Лукомского – Пальтауфа (у 8 из 10 животных), жидкость в пазухе основной кости черепа (до  $3,52 \pm 0,08$  мл) в желудке и тонком кишечнике. Сходные изменения отмечали и другие авторы при макроскопическом исследовании органов у погибших людей от аспирационного типа утопления [1,2,]. Отсутствие одного из признаков утопления можно объяснить существенным влиянием индивидуальных реакций животных на острую аноксию [6].

При исследовании гистологических препаратов, окрашенных по методу Гримелиуса и иммуногистохимической методике, АПУД-клетки встречались в небольшом количестве в СОГ. Эти данные получили подтверждение и при морфометрическом исследовании СОГ у погибших животных ГС (табл. 2). При этом количество аргирофильных и серотонинсодержащих апудоцитов оказалось значительно меньше, чем в ОГ и 3-й КГ.

В этом плане результаты нашего исследования согласуются с данными ряда авторов, отметивших наличие большего количества апудоцитов в воздухоносных путях и легких у плодов и детей, чем у взрослых людей [4]. Эти различия связаны с непосредственным участием эндокринных клеток, в частности, продуцирующих серотонин, в процессах органогенеза, пролиферации и дифференцировки клеток органов дыхания, спазма гладкомышечных волокон воздухоносных путей [4].

Количество аргирофильных и серотонинсодержащих апудоцитов в СОГ крыс в зависимости от группы наблюдения и типа утопления (M±m)

Table 2

The number of argyrophilic and serotonin-containing apudocytes in SOG of rats depending on the observation group and type of drowning (M±m)

Показатель / Indicator	Группа наблюдения / Group observations	Тип утопления / Type of drowning
Аргирофильные апудоциты, мм <sup>2</sup> / Argyrophilic apudocytes, mm <sup>2</sup>	1-я ОГ, OG (n= 20) 3-я КГ, KG (n=5)	Асфиктический / cAsphyxiating 20,91±0,45*** 10,82±0,15***
Апудоциты, содержащие серотонин, мм <sup>2</sup> / Apudocytes ontaining serotonin, mm <sup>2</sup>	1-я ОГ, OG (n=20) 3-я КГ, KG (n=5)	15,53±0,27*** 8,31±0,20***
Аргирофильные апудоциты, мм <sup>2</sup> / Argyrophilic apudocytes, mm <sup>2</sup>	2-я ГС, GS (n=20) 4-я КГ, KG (n=5)	Аспирационный / Aspiration 10,62±0,32*** 6,12±0,23
Апудоциты, содержащие серотонин, мм <sup>2</sup> / Apudocytes containing serotonin, mm <sup>2</sup>	2-я ГС, GS (n =20) 4-я КГ, KG (n=5)	7,12 ±0,31*** 3,92±0,12

Примечание: СОГ – слизистая оболочка гортани; ОГ – опытная группа; КГ – контрольная группа; \*p < 0,05 по сравнению со 2-й ГС; \*\*p < 0,05 по сравнению с 3-й КГ; \*\*\*p < 0,05 по сравнению с 4-й КГ.

Note: SOG – laryngeal mucosa; OG – experimental group; KG –control group; \*p < 0.05 compared to the 2nd GS; \*\*p < 0.05 compared to the 3rd KG; \*\*\*p < 0.05 compared to the 4th KG.

### Выводы

1. У молодых животных основной группы в условиях острой аноксии выявляется значительная гиперплазия аргирофильных и морфофункциональная активность серотонинсодержащих апудоцитов СОГ по отношению к аналогичным показателям животных группы сравнения. Эти изменения способствуют развитию ларингоспазма, что препятствует проникновению воды в воздухоносные пути и легкие при асфиктическом типе утопления.

2. У половозрелых животных группы сравнения в условиях острой аноксии отмечаются менее выраженные количественные реакции аргирофильных и морфофункциональной активности серотонинсодержащих апудоцитов в СОГ. Эти изменения не сопровождаются развитием ларингоспазма, что способствует проникновению воды в воздухоносные пути и легкие при аспирационном типе утопления.

3. Наличие феномена выраженной гиперплазии аргирофильных и морфофункциональной активности серотонинсодержащих апудоцитов СОГ в условиях острой аноксии у молодых животных может быть использовано в качестве дополнительного дифференциально диагностического критерия для асфиктического типа утопления при экспериментальных исследованиях.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Global report on drowning: preventing a leading killer/World Health Organization, 17 November 2014; 6; 59.

2. Исаев Ю.С., Свешников В.А. Судебно-медицинское обоснование смерти от утопления в воде: Информационное письмо. Иркутск, 1988; 14.

3. Коротун В.И., Витер В.И. Понятие «утопление» в судебной медицине. Проблемы экспертизы в медицине. 2008; 8 (2); 14-16.

4. Суходоло И.В., Геренг Е.А. Структурно-функциональная организация клеток диффузной эндокринной системы в дыхательных путях в норме и при патологии. Бюллетень сибирской медицины. 2008; 1: 15-17.

5. Фирсов А.С., Калинина Е.Ю. Диагностика утопления: эволюция подходов и современные методы. Современные проблемы науки и образования. 2015; 3. URL// [www.scienceeducation.ru/19598](http://www.scienceeducation.ru/19598).

6. Быстров С.С. Некоторые особенности проникновения жидкости в желудочно-кишечный тракт при различных видах утопления (экспериментальное исследование с применением метода меченых атомов). Судебно-медицинская экспертиза. 1964;1: 3-8.

## Авторы

Гиниатуллин Равиль Усманович  
 ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патологической анатомии и судебной медицины  
 Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор  
 prkom@chelsma.ru  
 Челябинск, Российская Федерация

Кузьмин Владимир Николаевич

ООО «Уралмедрезерв»

Директор

vladi-kuz@yandex.com

Челябинск, Российская Федерация

*R.U. Giniatullin<sup>1</sup>, B.N. Kuzmin<sup>2</sup>*

## FUNCTIONAL AND QUANTITATIVE MORPHOLOGY OF LARYNGEAL APUDOCYTES IN ASPHYXIC AND ASPIRATION TYPES OF DROWNING IN FRESH WATER (EXPERIMENTAL STUDY)

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «South Ural State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russian Federation;

<sup>2</sup> LLC «Uralmedrezerv», Chelyabinsk, Russian Federation

**Abstract.** *The aim of the study:* was to develop additional microscopic diagnostic criteria for asphyxiating type of drowning based on the study of quantitative morphology of laryngeal mucosal apudocytes (SOG) in rats. *Materials and methods of research:* the work was performed on 50 nonlinear male laboratory rats using histological, histochemical, immunohistochemical, morphometric, statistical methods. *The results of the study:* the data obtained showed that animals with different weights have age-related features of the response of apudocytes of COG in drowning conditions. Conclusions: 1. In young animals of the experimental group in conditions of acute anoxia, significant hyperplasia of argyrophilic and morphofunctional activity of serotonin-containing apudocytes of COG is revealed in relation to similar indicators of animals of the comparison group. These changes contribute to the development of laryngospasm, which prevents the penetration of water into the airways and lungs in asphyxiated type of drowning. 2. In sexually mature animals of the comparison group in conditions of acute anoxia, less pronounced quantitative reactions of argyrophilic and morphofunctional activity of serotonin-containing apudocytes in COG are noted. These changes are not accompanied by the development of laryngospasm, which contributes to the penetration of water into the airways and lungs with aspiration type of drowning. 3. The presence of the phenomenon of pronounced hyperplasia of argyrophilic and morphofunctional activity of serotonin-containing apudocytes of COG in conditions of acute anoxia in young animals can be used as an additional diagnostic criterion for the asphyxic type of drowning in experimental studies.

**Keywords:** rats, drowning, SOG, apudocytes

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Ravil U. Giniatullin

prkom@chelsma.ru;

Received 20.06.2023

For citation:

Giniatullin R.U., Kuzmin B.N. Functional and quantitative morphology of laryngeal apudocytes in

asphyxic and aspiration types of drowning in fresh water (Experimental study). [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2023, Vol. 20, no. 3, pp. 24–30. DOI: 10.22138/2500-0918-2023-20-3-24-30 (In Russ)

#### REFERENCES

1. Global report on drowning: preventing a leading killer/World Health Organization, 17 November 2014; 6; 59.
2. Isaev Yu.S., Sveshnikov V.A. Forensic medical justification of death by drowning in water: Informational letter. Irkutsk, 1988; 14.
3. Korotun V.I., Viter V.I. The concept of «drowning» in forensic medicine. Problems of expertise in medicine. 2008; 8 (2); 14-16.
4. Sukhodolo I.V., Gereng E.A. Structural and functional organization of cells of the diffuse endocrine system in the respiratory tract in normal and pathological conditions. Bulletin of Siberian Medicine. 2008; 1: 15-17/
5. Firsov A.S., Kalinina E.Yu. Diagnosis of drowning: evolution of approaches and modern methods. Modern problems of science and education. 2015; 3. URL// [www.scienceeducation.ru/19598](http://www.scienceeducation.ru/19598).
6. Bystrov S.S. Some features of the penetration of fluid into the gastrointestinal tract in various types of drowning (experimental study using the method of labeled atoms). Forensic medical examination. 1964;1: 3-8.

#### Authors

Ravil U. Giniatullin

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «South Ural State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation

Honored Worker of Science of the Russian Federation, Doctor of Medical Sciences, Professor [prkom@chelsma.ru](mailto:prkom@chelsma.ru)

Chelyabinsk, Russian Federation

Vladimir N. Kuzmin

Uralmedreserv LLC

Director

[vladi-kuz@yandex.com](mailto:vladi-kuz@yandex.com)

Chelyabinsk, Russian Federation