УДК 611.656]-053.88/.9-091.5 **DOI: 10.21626/vestnik/2020-3/06**

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АМПУЛ МАТОЧНЫХ ТРУБ ЖЕНЩИН ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

© Баландина И.А., Некрасова А.М.

Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера (ПГМУ им. ак. Е.А. Вагнера)

Россия, 614099, Пермский край, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26

Цель исследования: определить размеры и выявить особенности гистоархитектоники ампулы маточной трубы женщины в пожилом возрасте.

Материалы и методы. Исследовали ампулу обеих маточных труб 26 нерожавших и 78 рожавших женщин пожилого возраста. Использовали морфометрический, гистологический, иммуногистохимический и микрометрический методы исследования.

Результаты. Длина и наружный диаметр маточных труб в местах переходов перешейка в ампулу и ампулы в воронку, а также в центральной части ампулы характеризуются отсутствием статистически достоверного различия параметров у нерожавших и рожавших женщин. Особенности гистоархитектоники ампул маточных труб у нерожавших и рожавших женщин в пожилом возрасте заключаются в уплощении эпителия слизистой оболочки, формирующей множество близко расположенных утолщенных складок, создающих неравномерное сужение просвета ампулы, и разрастании соединительной ткани между пучками мышечных волокон мышечной оболочки. Наличие экспрессии Ki-67 в единичных клетках, составляющих менее 1% в случайно выбранных полях зрения среза, а также эпителиального мембранного антигена тонким слоем в эпителии ампулы наряду с полным отсутствием его экспрессии в строме отражает нормальную регенерацию ткани и выступает в качестве эквивалента анатомической нормы у нерожавших и рожавших женщин пожилого возраста. При сравнении показателей площадей просвета ампулы и ее стенки при срединном сечении, а также длины окружности эпителиальной выстилки выявлено преобладание параметров в правой маточной трубе ($p<0,01$).

Заключение. Исследование показало схожие качественные и количественные морфологические характеристики ампул маточных труб как у нерожавших, так и у рожавших женщин в пожилом возрасте.

Ключевые слова: ампула маточной трубы; пожилой возраст; морфометрия; Ki-67; EMA.

Баландина Ирина Анатольевна – д-р мед. наук, зав. кафедрой нормальной, топографической и клинической анатомии, оперативной хирургии, ПГМУ им. ак. Е.А. Вагнера, г. Пермь. ORCID iD: 0000-0002-4856-9066. E-mail: balandina_ia@mail.ru

Некрасова Анна Михайловна – ассистент кафедры нормальной, топографической и клинической анатомии, оперативной хирургии, ПГМУ им. ак. Е.А. Вагнера, г. Пермь. ORCID iD: 0000-0003-4395-7227. E-mail: aspirant-nekrasova@yandex.ru (автор, ответственный за переписку)

Проблемы возрастной изменчивости морфофункциональных характеристик человека все чаще привлекают внимание исследователей [4, 6, 8]. Период постменопаузы в женском организме характеризуется иволютивными процессами, на фоне которых происходят возрастные изменения как во всем организме в целом, так и в органах репродуктивной системы женщины в частности. В связи с увеличением продолжительности жизни современного человека научный интерес к пожилому возрасту женщин неизменно повышается [5, 9, 12]. Общеизвестно, что с возрастом претерпевают изменения не только размеры, форма, порой и топография органов, но и их внутренняя структурная организация. Каждый анатомический отдел маточной трубы, прежде всего ее ампула, характеризуется значительной вариабельностью. Морфологическая картина маточных труб ярко демонстрирует цикличность изменений в организме женщины не только в репродуктивном возрасте, но и после менопаузы. Поскольку недостаток данных возрастной морфологии особо ощущается при работе с женщинами пожилого возраста, необходимость детального изучения морфологических особенностей ампулы маточной трубы женщины в данном возрасте послужила определению цели данной работы.

Цель исследования: определить размеры и выявить особенности гистоархитектоники ампулы маточной трубы женщины в пожилом возрасте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в танатологическом отделении Государственного казенного учреждения здравоохранения особого типа Пермского края «Пермское краевое бюро судебно-медицинской экспертизы» в период 2014-2019 годы и основана на анализе результатов комплексного морфологического исследования, включающего макрометрический, гистологический, иммуногистохимический и микрометрический методы, 104 трупов женщин пожилого возраста

(60-74 лет включительно): 26 нерожавших женщин и 78 рожавших. Исследовали обе маточные трубы.

Использовали следующие критерии включения объектов в исследование: причина смерти женщин – травмы или ранения без повреждений живота и таза; анамнестические данные погибших, исключающие патологию органов репродуктивной системы; давность смерти, не превышающая 24-36 часов; хранение трупов погибших до исследования в одинаковых условиях при температуре +2℃; антропометрические параметры женщин, включающие длину тела, равную 160-175 см; массу тела – 55-75 кг, индекс массы тела – 20-25 кг/м^2, нормальную форму таза; отсутствие макроскопических признаков патологии органов репродуктивной системы, выявляемых при заборе материала.

Морфометрию маточных труб проводили после их выделения из полости таза при помощи микрометра (ГОСТ 650-90). Измеряли длину ампулы и наружный диаметр маточных труб в местах переходов перешейка в ампулу и ампулы в воронку, а также в центральной части ампулы.

Для проведения гистологического исследования аутопсийный материал ампул маточных труб фиксировали в 10% растворе забуференного по Лилли формалина (pH – 7,2) в течение 24 часов, затем промывали в проточной воде в течение 30 минут, подвергали обезвоживанию и заливке в парафин по схеме: спирт 60,0% – 2 часа, спирт 70,0% – 2 часа, спирт 96,0% – 2 часа, спирт 96,0% – 2 часа, спирт + ксилол (1:1) – 2 часа, ксилол + парафин (1:1) – 2 часа, парафин I 56о – 2 часа, парафин II 56о – 1 час.

После заливки кусочков в парафиновые блоки на ротационном микротоме изготавливали гистологические срезы толщиной 4-6 микрон на уровне средней трети ампулы. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону.

Иммуногистохимическое исследование выполняли по стандартным протоколам. Использовали концентрированные первичные моноклональные мышиные антитела к Ki-67, эпителиальному мембранному антигену (EMA) (“Lab Vision”, США), рабочее разведение 1:100, система визуализации KP50L (“Diagnostic BioSystems”, USA). Парафиновые срезы наклеивали на предметные стекла с адгезивным полилизиновым покрытием (“Thermo Scientific”, Menzel-Glaser Polysine® Slides 25×75×1,0 mm, Gerhard Menzel, GmbH).

Для восстановления антигенных детерминант после формалиновой фиксации депарафинизированные срезы подвергали нагреванию: срезы помещали в 0,01 М цитратный буфер (pH=6,0) и кипятили в течение 20-30 мин, затем – в трис-буфер (pH=7,5) на 5 мин, обрабатывали 0,3% раствором пероксида водорода (пероксидазный блок), после чего проводили инкубацию с первичными антителами в течение 10-30 мин во влажной камере. Перед использованием концентрированные антитела разводили растворителем антител (Primary Antibody Diluent, “Diagnostic BioSystems”, USA) в титре 1:100 согласно инструкции фирмы-производителя антител. При иммуногистохимических исследованиях использовали позитивные контроли, рекомендованные фирмой-производителем. Затем срезы трехкратно промывали в трис-буфере, после чего подвергали экспозиции с вторичными антителами (мышиные и кроличьи биотинилированные антитела, “Diagnostic BioSystems”, USA) в течение 10 мин, промывали в трис-буфере, обрабатывали конъюгированным с пероксидазой стрептавидином в течение 10 мин и подвергали окрашиванию DAB+ (3,3'-диаминобензидин, “Diagnostic BioSystems” USA) в течение 1-2 мин, не допуская появления фонового окрашивания. Промывали в 2-3 порциях дистиллированной воды в течение 10-15 мин и докрашивали гематоксилином Майера. Срезы заключали в канадский бальзам и исследовали в проходящем свете микроскопа. Подсчет клеток с окрашиванием ядер проводили в шести случайно выбранных полях зрения среза при увеличении в 400 [7].

Микрометрическое исследование изображений гистологических препаратов проводили в программе Image-Pro Plus. Оно включало определение площади просвета ампулы маточной трубы, площади ее стенки и измерение длины окружности эпителиальной выстилки.

Статистический анализ выполняли с использованием программы Microsoft Excel 2014. В каждом гистологическом препарате проводили 10 измерений, после чего вычисляли средние арифметические величины (M) и их стандартные ошибки (m), медианы и 25-го и 75-го процентилей, вариационного коэффициента для каждого случая. Параметрический t-критерий Стьюдента использовали для проверки равенства средних значений в двух выборках. Достоверными считали отличия при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установленные размеры ампул маточных труб нерожавших и рожавших женщин пожилого возраста представлены в таблице 1.

Анализ полученных в ходе исследования результатов измерения длины ампул маточных труб у нерожавших и рожавших женщин не вы-

явил статистически достоверного различия параметров.

При сравнении показателей наружного диаметра маточных труб в местах переходов перешейка в ампулу и ампулы в воронку, а также в центральной части ампулы правой и левой маточных труб их статистически достоверного различия также не установлено.

Таблица 1

Table 1

Длина и наружный диаметр ампул маточных труб нерожавших и рожавших женщин (n=104)

The length and outer diameter of the uterine tubes ampullae in nulliparous and giving birth females (n=104)

№	Морфометрический показатель Morphometric indicator	Труба Tube	Нерожавшие женщины (n=26) Nulliparous female (n=26)	Рожавшие женщины (n=78) Female who gave birth (n=78)	Достоверность сравниваемых величин The reliability of the compared values
1	Длина ампулы, мм Ampulla length, mm	правая right	71.63±0.28	71.81±0.13	t=0.58 (p>0.05)
		левая left	71.56±0.28	71.67±0.13	t=0.36 (p>0.05)
2	Наружный диаметр в месте перехода перешейка в ампулу, мм The outer diameter at the point of transition of the isthmus into the ampulla, mm	правая right	6.42±0.01	6.40±0.01	t=1.41 (p>0.05)
		левая left	6.40±0.01	6.38±0.01	t=1.41 (p>0.05)
3	Наружный диаметр в центральной части ампулы, мм The outer diameter in the central part of the ampulla, mm	правая right	7.29±0.02	7.28±0.01	t=0.45 (p>0.05)
		левая left	7.28±0.02	7.26±0.01	t=0.89 (p>0.05)
4	Наружный диаметр в месте перехода ампулы в воронку, мм The outer diameter at the point of transition of the ampulla into the infundibulum, mm	правая right	7.98±0.04	8.06±0.02	t=1.79 (p>0.05)
		левая left	7.97±0.04	8.01±0.02	t=0.89 (p>0.05)

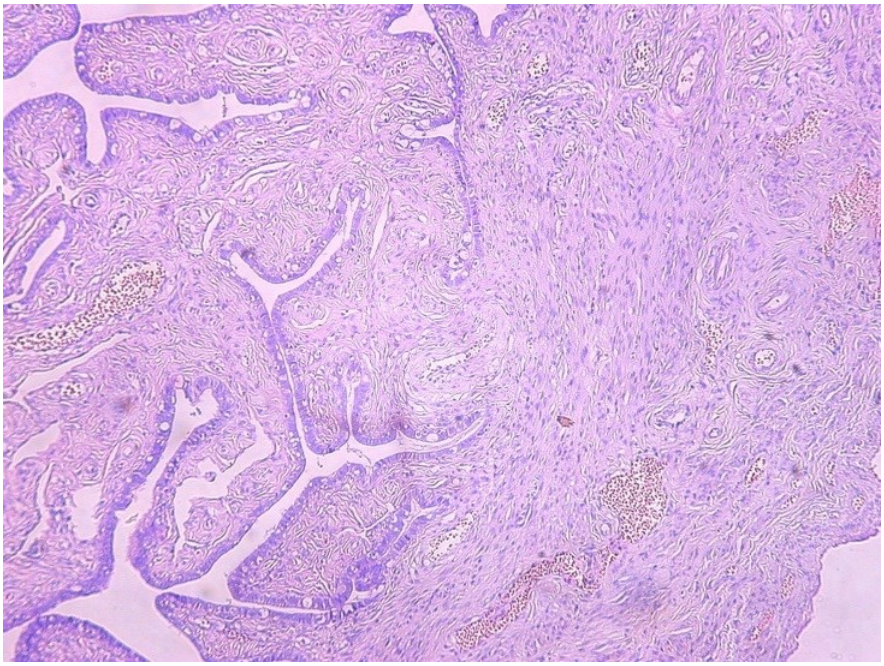

Рис. 1. Фрагмент ампулы маточной трубы нерожавшей женщины в возрасте 62 лет. Расположенные близко друг к другу, утолщенные складки ампулы. Разрастание соединительной ткани между пучками мышечных волокон. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×100.

Fig. 1. A fragment of the ampulla of the uterine tube of a nulliparous female aged 62 years. Close to each other, thickened folds of the ampoule. The proliferation of connective tissue between bundles of muscle fibers. Hematoxylin and eosin stain. M ×100.

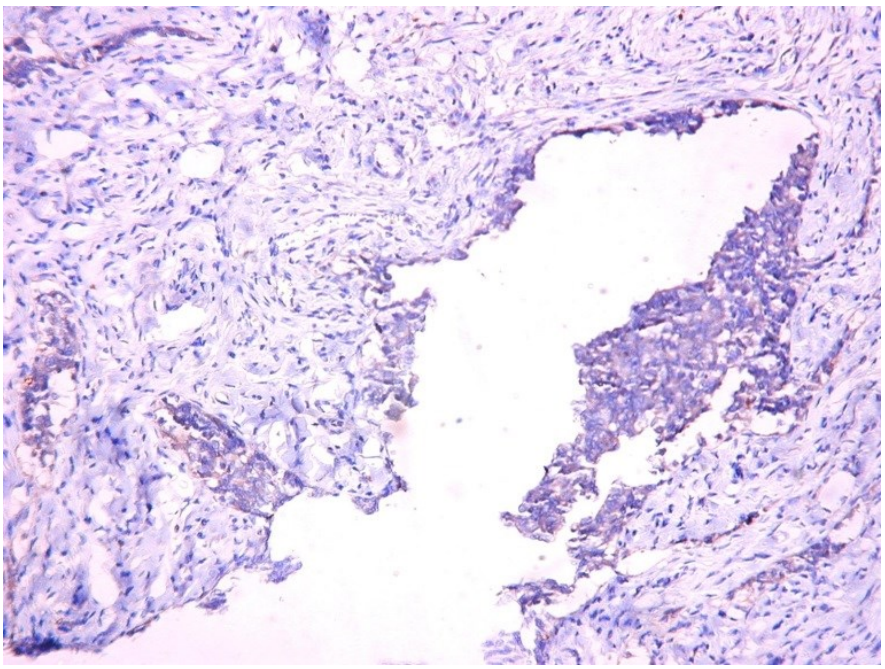

Рис. 2. Фрагмент ампулы маточной трубы рожавшей женщины в возрасте 65 лет. Экспрессия Ki-67 в единичных клетках ампулы. Увеличение ×200.

Fig. 2. A fragment of the ampulla of the uterine tube of a female who gave birth at the age of 65. Expression of Ki-67 in single ampulla cells. M ×200.

Результаты гистологического исследования показали, что в слизистой оболочке ампул маточных труб как у нерожавших, так и у рожавших женщин пожилого возраста эпителий уплощен, складки, расположенные близко друг к другу, утолщены, просвет ампулы неравномерно сужен. Мышечные волокна мышечной оболочки атрофированы. Между пучками мышечных волокон отмечается разрастание соединительной ткани. Серозная оболочка окружена жировой тканью. Сосуды расположены в ней группами, характеризуются утолщенной стенкой. В некоторых артериях наблюдаются отложения солей кальция (рис. 1).

Иммуногистохимическое исследование препаратов как у нерожавших, так и у рожавших женщин показало наличие экспрессии Ki-67 в единичных клетках. При подсчете таких клеток с окрашиванием ядер в случайно выбранных полях зрения среза их количество составляет не более 1%. Данный факт отражает нормальную регенерацию тканей [11] (рис. 2).

У женщин пожилого возраста экспрессия EMA представлена тонким слоем в эпителии маточных труб и полностью отсутствует в строме, что отражает нормальное гистологическое строение органа (рис. 3).

Полученные в ходе исследования результаты микрометрии ампул маточных труб нерожавших и рожавших женщин отражены в таблице 2.

При сравнении микрометрических показателей ампул обеих маточных труб между собой выявили статистически достоверное преобладание параметров в правой маточной трубе.

Достоверность сравниваемых величин следующая:

- площадь просвета ампулы: у нерожавших женщин $t=2,37$ ($p<0,05$), у рожавших женщин $t=3,13$ ($p<0,01$);
- площадь стенки ампулы при срединном сечении: у нерожавших женщин $t=2,76$ ($p<0,01$), у рожавших женщин $t=5,58$ ($p<0,01$);
- длина окружности эпителиальной выстилки: у нерожавших женщин $t=4,30$, ($p<0,01$), у рожавших женщин $t=8,10$ ($p<0,01$).

Таким образом, исследование показало схожие качественные и количественные морфологические характеристики ампул маточных труб как у нерожавших, так и у рожавших женщин в пожилом возрасте с преобладанием микрометрических параметров в правой маточной трубе.

Длина и наружный диаметр маточных труб в местах переходов перешейка в ампулу и ампулы в воронку, а также в центральной части ампулы характеризуются отсутствием статистически достоверного различия параметров у нерожавших и рожавших женщин.

Особенности гистоархитектоники ампул маточных труб у нерожавших и рожавших женщин в пожилом возрасте заключаются в уплощении эпителия слизистой оболочки, формирующей множество близко расположенных утолщенных складок, создающих неравномерное сужение просвета ампулы, и разрастании

соединительной ткани между пучками мышечных волокон мышечной оболочки.

Наличие экспрессии Ki-67 в единичных клетках, составляющих менее 1% в случайно выбранных полях зрения среза, а также эпителиального мембранного антигена тонким слоем в эпителии ампулы наряду с полным отсутствием его экспрессии в строме, отражает нормальную регенерацию ткани и выступает в качестве эквивалента анатомической нормы при иммуногистохимическом исследовании препаратов ампул маточных труб у нерожавших и рожавших женщин пожилого возраста.

Анализ таких микрометрических показателей, как площадь просвета ампулы, площадь ее стенки при срединном сечении и длина окружности эпителиальной выстилки как у рожавших, так и у нерожавших женщин пожилого возраста, выявил преобладание параметров в правой маточной трубе (p<0,01).

Таблица 2

Table 2

Результаты микрометрии ампул маточных труб нерожавших и рожавших женщин (n=104)

The results of micrometry of the uterine tubes ampullae in nulliparous and giving birth females (n = 104)

№	Морфометрический показатель Morphometric indicator	Труба Tube	Нерожавшая женщина (n=26) Nulliparous female (n=26)	Рожавшая женщина (n=78) Female who gave birth (n=78)	Достоверность сравниваемых величин The reliability of the compared values
1	Площадь просвета, мм^2 Lumen area, mm^2	правая right	9.18±0.14	9.00±0.07	t=1.15 (p>0.05)
		левая left	8.71±0.14	8.69±0.07	t=0.13 (p>0.05)
2	Площадь стенки при срединном сечении, мм^2 Wall area at the mid-section, mm^2	правая left	39.15±0.33	39.91±0.18	t=2.02 (p<0.05)
		левая left	37.82±0.35	38.45±0.19	t=1.58 (p>0.05)
3	Длина окружности эпителиальной выстилки, мм The circumference of the epithelial lining, mm	правая right	17.06±0.24	16.95±0.13	t=0.40 (p>0.05)
		левая left	15.60±0.24	15.46±0.13	t=0.51 (p>0.05)

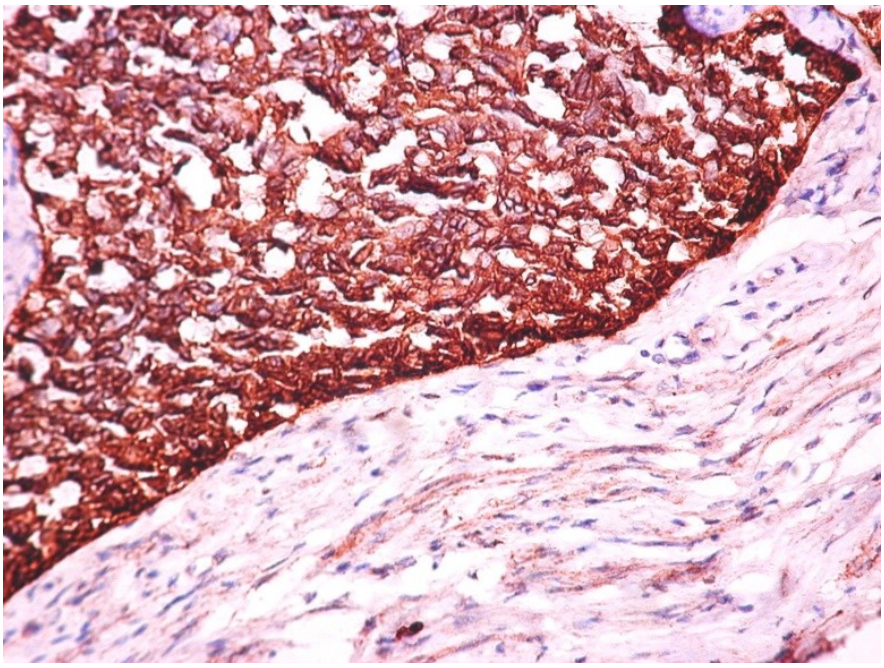

Рис. 3. Фрагмент ампулы маточной трубы рожавшей женщины в возрасте 68 лет. Экспрессия EMA в эпителии. Увеличение ×400.

Fig. 3. A fragment of the ampulla of the uterine tube of a female who gave birth at the age of 68. EMA expression in the epithelium. M×400.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом при ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера № протокола 13 от 21.12.2016 г.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Каплунова О.А. Возрастные особенности артериальных сосудов почек человека. *Медицинский вестник Юга России.* 2019;10(4):51–58 [Kaplunova O.A. Age features of arterial human kidney vessels. *Medical Bulletin of the South of Russia.* 2019;10(4):51–58 (in Russ.)] DOI: 10.21886/2219-8075-2019-10-4-51-58
2. Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Конышев К.В. Стандартизация иммуногистохимического определения уровня экспрессии Ki-67 в клетках различных тканей. *Морфология.* 2017;151(3):100 [Sazonov S.V., Brilliant A.A., Konyshev K.V. Standardization of immunohistochemical determination of the level of Ki-67 expression in the cells of various tissues. *Morfologiia.* 2017;151(3):100 (in Russ.)]
3. Сазонов С.В. Определение уровня пролиферации в тканях органов при иммуногистохимическом исследовании Ki-67. *Морфология.* 2018;153(3): 242–242a [Sazonov S.V. Determination of the level of proliferation in the tissues of organs by immunohistochemical study of Ki-67. *Morfologiia.* 2018;153(3):242–242a (in Russ.)]
4. Шадлинская С.В. Клеточный состав и микроанатомия лимфоидных образований преддверия влагалища в постнатальном онтогенезе. *Сеченовский вестник.* 2019;10(1):57–62 [Shadlinskaya S.V. Cellular composition and microanatomy of lymphoid formations of the vestibule of the vagina in postnatal ontogenesis. *Sechenov medical journal.* 2019;10(1): 57–62 (in Russ.)] DOI: 10.47093/22187332.2019.1.57-62
5. Amso N.N., Crow J., Lewin J., Shaw R.W. A comparative morphological and ultrastructural study of endometrial gland and fallopian tube epithelia at different stages of the menstrual cycle and the menopause. *Hum Reprod.* 1994;9(12):2234–2241. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a138429
6. Balandina I.A., Balandin A.A., Balandin V.A., Zheleznov L.M. Regularities of organometric characteristics of cerebellum in young and old age. *Journal of Global Pharma Technology.* 2017;9(3):49–53
7. Correr S, Makabe S, Heyn R, Relucenti M, Naguro T, Familiari G. Microplicae-like structures of the fallopian tube in postmenopausal women as shown by electron microscopy. *Histol Histopathol.* 2006;21(3): 219–226. DOI: 10.14670/HH-21.219
8. Ezzati M., Djahanbakhch O., Arian S., Carr B.R. Tubal transport of gametes and embryos: a review of physiology and pathophysiology. *J Assist Reprod Genet.* 2014;31(10):1337–1347. DOI: 10.1007/s10815-014-0309-x
9. Hena H., Ara S., Ullah M., Qasim R., Siddiqua D., & Jahora F. Age Related Change of Total Length of Fallopian Tubes in Bangladesh Female Cadaver. *Update Dental College Journal*, 2011;1(2):13–16. DOI: 10.3329/updcj.v1i2.13980
10. Hwang T.S., Song J. Morphometrical changes of the human uterine tubes according to aging and menstrual cycle. *Ann Anat.* 2004;186(3):263–269. DOI: 10.1016/S0940-9602(04)80014-1
11. Slobodian O., Guzik O. Anatomic peculiarities of cervix uteri ligaments in preand postnatal human ontogenesis. *The Moldovan Medical Journal.* 2017;60(3):50–53. DOI: 10.5281 / zenodo.1051160
12. Venturella R., Morelli M., Zullo F. The Fallopian Tube in the 21st Century: When, Why, and How to Consider Removal. *Oncologist.* 2015;20(11):1227–1229. DOI: 10.1634/theoncologist.2015-0172

Поступила в редакцию 30.06.2020
Подписана в печать 21.09.2020

Для цитирования: Баландина И.А., Некрасова А.М. Морфологическая характеристика ампул маточных труб женщин пожилого возраста. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2020;(3):46–52. DOI: 10.21626/vestnik/2020-3/06.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF UTERINE TUBES AMPULLAE IN ELDERLY FEMALES

© *Balandina I.A., Nekrasova A.M.*

Perm State Medical University named after Academician E. A. Wagner (E.A. Wagner PSMU)
26, Petropavlovskaya St., Perm, Perm krai, 614099, Russian Federation

The aim of the study is to determine the size and to identify the features of histoarchitectonics of the uterine tube ampulla of an old-aged female.

Materials and methods. The ampulla of both uterine tubes was examined in 26 nulliparous and 78 giving birth elderly women using morphometric, histological, immunohistochemical, and micrometric research methods.

Results. The length and outer diameter of uterine tubes at the points of transition of isthmus into the ampulla and ampulla into the infundibulum as well as in the central part of ampulla are characterized by the absence of a statistically significant difference in parameters in nulliparous and giving birth women. The histoarchitectonic features of the ampullae of the uterine tubes in nulliparous and giving birth women in old age consist in the flattening of the epithelium of the mucous membrane, which forms many closely spaced thickened folds that create an uneven narrowing of the ampulla lumen, and the proliferation of connective tissue between the bundles of muscle fibers of the muscular membrane. The presence of Ki-67 expression in single cells of less than 1%, as well as a thin layer of epithelial membrane antigen in the epithelium of the ampulla along with the complete absence of its expression in the stroma reflect normal tissue regeneration and act as an equivalent to the anatomical norm in elderly females. When comparing lumen areas of ampulla and its wall at midsection as well as the circumference of epithelial lining, a predominance of parameters in the right uterine tube was revealed ($p<0.01$).

Conclusion. The study showed the similar qualitative and quantitative morphological characteristics of the uterine tube ampullae both in nulliparous and giving birth females in old age.

Keywords: uterine tube ampulla; old age; morphometry; Ki-67; EMA.

Balandina Irina A. – DM, Head of Normal, Topographic and Clinical Anatomy, Operative Surgery Department, E.A. Wagner PSMU, Perm, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-4856-9066. E-mail: balandina_ia@mail.ru

Nekrasova Anna M. – Assistant of Normal, Topographic and Clinical Anatomy, Operative Surgery Department, E.A. Wagner PSMU, Perm, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-4395-7227. E-mail: aspirant-nekrasova@yandex.ru (correspondence author)

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study was approved by the local ethics committee at E.A.Wagner PGMU. Protocol No. 13 dated 12/21/2016.

Received 30.06.2020
Accepted 21.09.2020

For citation: Balandina I.A., Nekrasova A.M. Morphological characteristics of uterine tubes ampullae in elderly females. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health".* 2020;(3):46–52. DOI: 10.21626/vestnik/2020-3/06.