

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Е.Н. Кроткова

« 29 » 2023 г.

Регистрационный № 042-0523



МЕТОД МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВУЛЬВЫ, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ ЛЕЙКОПЛАКИЕЙ (инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», учреждение здравоохранения «Городское клиническое патологоанатомическое бюро».

АВТОРЫ: Кузьменко-Москвина Ю.А., канд. мед. наук, доц. Бич Т.А., Корнев Н.В., Солодка О.И.

Минск, 2023

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод морфологической диагностики заболеваний вульвы, клинически манифестирующих в виде лейкоплакии, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на диагностику заболеваний вульвы.

Инструкция предназначена для врачей-патологоанатомов, врачей-акушеров-гинекологов, врачей-дерматовенерологов, врачей-онкологов-хирургов, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь женщинам с заболеваниями вульвы в стационарных и/или амбулаторных условиях, и/или в условиях отделений дневного пребывания.

Показания к применению: пациенты с заболеваниями вульвы, клинически проявляющиеся лейкоплакией (белыми пятнами/бляшками) с персистирующим характером очагов поражения (N76.2, N76.3, N76.8, N90.0-90.4 по МКБ-10) и редуцированным эффектом от предшествующей терапии топическими противовоспалительными лекарственными средствами.

Противопоказания к применению: отсутствуют.

Перечень используемых сокращений:

ВИН – вульварная интраэпителиальная неоплазия.

ВПИП – высокогредное плоскоклеточное интраэпителиальное поражение.

ВПЧ – вирус папилломы человека.

дВИН – дифференцированная вульварная интраэпителиальная неоплазия.

ИГХ – иммуногистохимия.

КПЛ – красный плоский лишай.

ЛПХ – лишай простой хронический.

МПЭ – многослойный плоский эпителий.

НПИП – низкогредное плоскоклеточное интраэпителиальное поражение.

ПГ – плоскоклеточная гиперплазия.

ПИП – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение.

ПКК – плоскоклеточная карцинома.

СЛ – склеротический лишай.

Перечень необходимых медицинских изделий, реагентов и т.д.:

1. Аппарат для автоматической проводки гистологического материала.
2. Ксилол.
3. Спирт этиловый медицинский (70% и 95%).
4. Гистологические красители:
 - 4.1. гематоксилин Вейгерта А и В;
 - 4.2. эозин;
 - 4.3. набор реагентов для ШИК (PAS) реакции;
 - 4.4. набор реагентов для окрашивания орсеином.
5. Антитела для иммуногистохимического (ИГХ) исследования:
 - 5.1. кроличьи моноклональные антитела к человеческому p53;
 - 5.2. кроличьи моноклональные антитела к белку p16;
 - 5.3. мышинные моноклональные антитела к человеческому белку Ki- 67.
6. Формалин 10% нейтральный забуференный (готовый), Labiko или аналог.
7. Лабораторная посуда.
8. Микротом.
9. Предметные стекла.
10. Покровные стекла.
11. Среда для заключения под покровное стекло.
12. Микроскоп световой.

Описание технологии использования метода

Метод, изложенный в настоящей инструкции реализуется в несколько этапов:

1. Получение и подготовка биологического материала для транспортировки

Биологический материал представляет собой фрагмент кожи и (или) слизистой оболочки вульвы, полученный путем иссечения очага лейкоплакии способом панч-биопсии, бритвенной или инцизионной биопсии. При условии проведения предшествующей терапии топическими противовоспалительными лекарственными средствами, биопсия берется спустя 2–4 недели после ее отмены. Полученный биологический материал следует поместить в герметичный пластиковый контейнер с достаточным объемом фиксирующей жидкости – раствора формалина 10% нейтрального забуференного (соотношение 1:10 – 1:20), оптимальный срок фиксации составляет 24 часа.

Оформление направления на патогистологическое исследование (далее – направление) производится в соответствии с инструкцией о порядке проведения патологоанатомического исследования, утвержденной постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 7 мая 2021 г. № 46. Примерная форма направления приведена в приложении 1.

2. Макроскопическое исследование биологического материала

Присланный биологический материал следует извлечь из флакона целиком, указать точное количество имеющихся объектов, а также провести их макроскопическую характеристику с описанием размера, формы, цвета, консистенции, вида на разрезе и очаговых изменений (если имеются).

Для патогистологического исследования лейкоплакического поражения биоптат должен быть репрезентативным – правильно ориентирован, с наличием покровного многослойного плоского эпителия

(МПЭ) и подлежащей соединительной ткани, без искусственных изменений вследствие механического и (или) термического воздействия.

После макроскопического исследования гистологическая проводка биологического материала и изготовление парафиновых блоков осуществляются по стандартной методике.

3. Микроскопическое исследование биологического материала

Из парафиновых блоков вульварного биоптата (-ов) при помощи микротомы изготавливаются серийные гистологические срезы толщиной 3-4 мкм. Окрашивание полученных гистологических срезов следует проводить с использованием:

- а) гематоксилина и эозина (г/э) – базовое окрашивание;
- б) орсеина – для оценки состояния эластических волокон в дерме или собственной пластинке слизистой оболочки;
- в) ШИК-реакции – для выявления утолщения базальной мембраны МПЭ, а также визуализации спор и гиф грибковой флоры в роговом слое.

Алгоритм морфологического исследования при световой микроскопии представлен в таблице 1 и включает в себя послойную оценку состояния МПЭ, подлежащей соединительной ткани и придатков кожи и (или) слизистой оболочки вульварного биоптата.

Таблица 1 – Алгоритм микроскопического исследования вульварного биоптата

№п/п	Зона биоптата вульвы	Гистологическая характеристика признаков
1.	Анатомическая зоны вульвы	лобок, большие или малые половые губы, клитор, преддверие вульвы
2.		Покровный МПЭ*, †
2.1.	Роговой слой	нормальный (ортокератоз), утолщенный (компактный гиперкератоз, пластинчатый гиперкератоз, ортогиперкератоз), кератоз (наличие рогового слоя в норме неороговевающего эпителия в области преддверия вульвы, т.е. слизистой оболочки). Паракератоз, его протяженность. Наличие гиф или спор грибковой флоры в роговых массах.

2.2.	Зернистый слой	нормальный, гипо-, гипер- или агранулез
2.3.	Шиповатый слой	нормальный, гиперплазированный, истонченный (потеря эпидермальных гребней при сохранении нормальной толщины шиповатого слоя), атрофичный (уменьшение общей толщины шиповатого слоя). При гиперплазии шиповатого слоя (акантозе) оцениваются его вариант, регулярность, мономорфизм и степень выраженности (варианты акантоза: пилообразный, псориазиформный акантоз). Наличие эрозий или язв, дискератоза, а также внутриэпителиальных пузырьков и пузырей.
2.4.	Базальный слой	относительно неизменный/нормальный (клетки овальной формы, со скудной эозинофильной цитоплазмой, вытянутым ядром с плотно упакованным мелкодисперсным хроматином, без четко видимого ядрышка), с реактивными изменениями (появление видимого ядрышка при нормальном или увеличенном размере ядра, скудной или, напротив, обильной эозинофильной цитоплазме), скваматизацией (крупные пластинчатые клетки с обильной эозинофильной цитоплазмой, центрально расположенным округлым ядром с ядерным эухроматином и хорошо заметным ядрышком), клеточной дисплазией/атипией (анизонуклеоз, кариомегалия, ядерная гиперхромия, формирование кластеров (мелких групп) клеток со скудной цитоплазмой, ядерным гетеро- или эухроматином с хорошо видимым ядрышком). Дополнительно следует оценивать спонгиоз, экзоцитоз клеток воспаления; наличие гидропической дистрофии базальных кератиноцитов и утолщения базальной мембраны МПЭ, субэпителиальных пузырьков и пузырей; цитоидных телец, апоптоза.
3.	Дерма или субэпителиальная соединительная ткань	наличие вертикального фиброза сосочков дермы, субэпителиальной гомогенизации коллагена (очаговая или диффузная), оценка состояния эластических волокон; распространенность (очаговый или диффузный, поверхностный или глубокий), характер (периваскулярный, перифолликулярный, перисирингиальный, периневральный, лихеноидный) и состав воспалительного инфильтрата (лимфоциты, плазмциты и др.); состояние стенок кровеносных сосудов (склероз, васкулит и др.), недержание пигмента и др.
4.	Придатки кожи – волосы, сальные и потовые железы	атрофия, исчезновение, гиперплазия, эктазия волосяных фолликулов и др.; утолщение фолликулярной базальной мембраны, гидропическая дистрофия кератиноцитов в

	базальных отделах эпителия волосяного фолликула, спонгиоз фолликулярного эпителия и др.
--	---

***Плоскоклеточная гиперплазия (ПГ) МПЭ** не является нозологической единицей и представляет собой описательный морфологический термин, обозначающий акантоз МПЭ. Данный признак характерен для некоторых дерматозов (склеротический лишай, лишай простой хронический) и плоскоклеточной интраэпителиальной неоплазии. Наличие ПГ на фоне дерматоза следует отражать в морфологическом диагнозе. Морфологическое заключение «вульварная плоскоклеточная гиперплазия» может фигурировать в качестве самостоятельного диагноза (диагноза исключения), если признаков конкретной нозологической единицы или дисплазии эпителия на фоне гиперплазии МПЭ не выявлено (приложение 2, рисунок 1). Особое внимание при этом следует обращать на базальные отделы МПЭ: наличии в них очаговой или диффузной атипичии кератиноцитов, патологических митозов при отсутствии ассоциированной субэпителиальной воспалительной инфильтрации следует интерпретировать как дифференцированная вульварная интраэпителиальная неоплазия. Наличие воспалительной инфильтрации непосредственно под атипичным эпителием является показанием к повторной биопсии после проведения противовоспалительной терапии.

†**Наличие признаков дисплазии МПЭ** (приложение 2, рисунки 2-4): нарушение стратификации эпителия; состояние кератиноцитов – анизонуклеоз, гиперхромия или появление заметных ядрышек, кариомегалия, изменение тинкториальных особенностей ядер и цитоплазмы, койлоцитоз, внутриядерные вирусные включения (ВПЧ-поражение), наличие нормальных или атипических митозов (указать отдел МПЭ).

4. Иммуногистохимическое исследование вульварного биоптата с применением маркеров p53, Ki-67 и p16

Данный этап следует проводить для морфологической верификации плоскоклеточного интраэпителиального поражения вульвы (ПИП, squamous intraepithelial lesion, SIL). Протокол ИГХ исследования определяется инструкцией к применению, определенной производителем антител. Конкретные условия зависят от характеристик применяемых в лаборатории реагентов и расходных материалов, что требует предварительной отработки методики на контрольных образцах ткани. Выполнение ИГХ исследования осуществляется с обязательным положительным и отрицательным контролем ИГХ реакции.

4.1. Характеристика экспрессии p53. Данный маркер характеризуется ядерной экспрессией, которую следует оценивать только в позитивно окрашенных ядрах базальных кератиноцитов МПЭ. Интенсивность окрашивания оценивается в зависимости от степени

выраженности экспрессии и варьирует от 0 до 3, где 0 – отсутствие реакции, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – выраженная. В качестве положительного контроля используются гистологические срезы высокогредной серозной карциномы яичника. Подсчет позитивных ядер следует проводить на 200-х непрерывно расположенных клетках с выраженной и умеренной степенью интенсивности окрашивания, при этом доля позитивных ядер, индекс маркировки (ИМ), будет указывать на один из трех возможных вариантов экспрессии p53: положительная (непрерывное линейное окрашивание, ИМ более 70%), «дикий» тип («wild» type, прерывистое линейное окрашивание, ИМ 10-69%), отрицательная – при доле позитивных клеток менее 10%, «нулевой» (мутантный) тип – при тотально негативном ядерном окрашивании. Дополнительно следует отмечать супрабазальное окрашивание p53, которое наблюдается при положительном типе экспрессии.

Интерпретация результатов: положительный (приложение 2, рисунок 2б) и «нулевой» типы экспрессии p53 характерны для дифференцированной вульварной интраэпителиальной неоплазии (дВИН, differentiated vulvar intraepithelial neoplasia, dVIN); для дВИН также характерны высокий пролиферативный индекс в базальных отделах МПЭ и отсутствие экспрессии p16 (приложение 2, рисунок 2в-г). Примечание: положительный тип экспрессии p53 также наблюдается в 49,1% случаев склеротического лишена (СЛ) вульвы (приложение 2, рисунок 5а).

4.2. Характеристика экспрессии Ki-67. Данный маркер характеризуется ядерной экспрессией, которую следует оценивать только в позитивно окрашенных ядрах кератиноцитов базального и шиповатого слоев МПЭ. В качестве положительного контроля используются гистологические срезы миндаины. Оценку экспрессии с определением

индекса пролиферативной активности базальных кератиноцитов следует проводить по аналогии с p53, шиповатого слоя – как правило, по третям МПЭ: экспрессия в нижней трети, в нижних двух третях и во всей толще МПЭ. Пролиферативная активность МПЭ в норме составляет 1-2% и ограничена базальным слоем.

Интерпретация результатов: повышенная экспрессия Ki-67 (более 2%) в нижней трети характерна для низкоградного ПИП (НПИП, low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL) и дВИН (приложение 2, рисунок 3г), в нижних двух третях и всей толще эпителиального пласта – для ВПИП (ВПИП, high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL) (приложение 2, рисунок 4г). Примечание: повышенная экспрессия Ki-67 (более 2%) в базальных отделах МПЭ также может наблюдаться при таких дерматозах, как СЛ, красный плоский лишай (КПЛ) и лихен простой хронический (ЛПХ, lichen simplex chronicus).

4.3. Характеристика экспрессии p16. Данный маркер характеризуется ядерно-цитоплазматической экспрессией, которую следует оценивать в базальном и шиповатом слоях МПЭ. В качестве положительного контроля используются гистологические срезы ВПЧ-ассоциированного (как правило, низкоградного) плоскоклеточного рака шейки матки. Положительным («block-type») следует считать непрерывное ядерно-цитоплазматическое окрашивание базального и шиповатого слоев МПЭ (приложение 2, рисунок 4в). Окрашивание отдельных кератиноцитов или групп клеток следует считать отрицательным.

Интерпретация результатов: положительный («block-type») тип экспрессии p16 характерен для ВПИП (приложение 2, рисунок 4в).

5. Формулировка патогистологического заключения

Патогистологическое заключение в каждом случае следует формулировать с учетом проведения клинико-морфологической корреляции – морфологические признаки интерпретируются на основании клинических проявлений патологического процесса.

Патогистологическое заключение состоит из двух частей – описательной и непосредственного заключения. Возможные нозологические единицы, наиболее часто клинически проявляющиеся лейкоплакическим поражением и их морфологическая характеристика представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Морфологическая характеристика наиболее частых нозологий с лейкоплакическим поражением вульвы

№п/п	Нозологическая единица	Морфологическая характеристика
1.	Склеротический лихен (N90.4)	Наличие: а). пограничного дерматита (базальноклеточной вакуольной дистрофии МПЭ) б). утолщенной ШИК-положительной базальной мембраной МПЭ, в). разной степени выраженности гомогенизации субэпителиального коллагена (приложение 2, рисунок ба-г). Под «гомогенизацией» коллагена следует понимать замещение субэпителиальной ткани аморфной «стекловидной» слабозозинофильной массой, практически лишенной клеток, с рассеянными эктазированной тонкостенными сосудами. В зависимости от степени выраженности гомогенизации коллагена следует выделять две морфологические стадии дерматоза: раннюю – при очаговой гомогенизации (приложение 2, рисунок ба), и позднюю – при диффузной полосовидной гомогенизации (приложение 2, рисунок бб). Последнее является важным с морфологической точки зрения ввиду трудности в морфологической верификации диагноза СЛ ранней стадии и необходимости проведения дифференциальной морфологической диагностики с КПЛ (приложение 2, рисунок 7а-б). В таких случаях важно исследовать серии гистологических срезов присланного биологического материала для выявления очагового характера гомогенизации и базальноклеточной вакуольной дистрофии МПЭ, характерных для СЛ. Наличие на фоне СЛ таких морфологических признаков, как ПГ, базальноклеточная атипия, дискератоз и паракератоз следует отражать в

		морфологическом диагнозе, поскольку такие элементы поражения имеют более высокий риск неопластической трансформации.
2.	Красный плоский лишай (N76.8, L43)	Наличие: а). лихеноидного дерматита, б). отсутствии субэпителиальной гомогенизации коллагена, в). отсутствии утолщения эпителиальной базальной мембраны. Ранняя стадия СЛ морфологически может быть идентична КПЛ, поэтому наличие в лейкоплакических поражениях «лихеноидного дерматита» следует трактовать как «КПЛ» или «СЛ ранней стадии» и рекомендовать клинкоморфологическую корреляцию (приложение 2, рисунок 7а-б). Пилообразные изменения МПЭ, цитоидные тельца и сателлитарный клеточный некроз характерны для вульварного КПЛ, но также могут наблюдаться при САЛ (приложение 2, рисунок 8а-б).
3.	Лихен простой хронический (N76.8, L28.0)	Наличие: а). гиперплазии МПЭ, б). компактного кератоза или гиперкератоза, в). гипергранулеза, г). вертикального фиброза сосочков дермы (приложение 2, рисунок 9). ЛПХ является морфологическим субстратом хронического трения вследствие зуда. Клинически процесс, как правило, проявляется бляшками.
4.	Хронический лучевой дерматит (N76.8, L58)	Наличие: а). выраженного склероза субэпителиального коллагена, б). единичных фибробластов с атипичными гиперхромными ядрами. Дифференциальный морфологический диагноз следует проводить с СЛ. Морфологический диагноз выставляют при условии наличия в анамнезе клинических данных о лучевой терапии.
5.	Вульварное ПИП (vulvar SIL [N90.0-90.2])	Морфологические критерии приведены в ВОЗ (2014, 2020) (приложение 2, рисунки 2-4). Для верификации предраковых поражений вульвы следует использовать ИГХ с антителами к p53, p16 и Ki-67. Для унификации терминологии и исключения ошибочности трактовки патогистологического заключения рекомендуется приводить в круглых скобках действующие синонимы поражения вульвы (ВИН и др.). Фоновые процессы, такие как СЛ и КПЛ, при их наличии, также необходимо отмечать в заключении ПИП.
6.	Грибковая инфекция (N77.1)	Наличие спор и (или) гиф грибов, чаще рода <i>Malassezia furfur</i> и <i>Candida</i> . Обнаружение грибов требует пристального исследования рогового слоя и обязательного применения ШИК-реакции (приложение 2, рисунок 10). На грибковую инфекцию указывают следующие признаки: а). скопления нейтрофилов в роговых массах, б). примесь нейтрофилов в субэпителиальном воспалительном инфильтрате.

При невозможности установления конкретной нозологической формы заболевания вульвы следует указать главный морфологический признак, послуживший причиной лейкоплакии (например, кератоз) или морфологический тип (паттерн) дерматита (спонгиозный, пограничный, лихеноидный дерматит и др.). При этом возможно использовать одну из следующих формулировок: «Морфологическая картина более характерна для...», «Изменения могут наблюдаться при... Рекомендуется клинико-морфологическая корреляция».

Примеры морфологического заключения (диагноза) представлены в приложении 3.

Перечень возможных осложнений или ошибок при выполнении и пути их устранения

1. Неправильное получение биологического материала – фрагмент ткани менее 0,5 см и (или) искусственные изменения в нем. Описание: фрагмент ткани 0,5 см с наличием механического сдавления, а также грубых электрокоагуляторных повреждений биоптата. Путь устранения: иссечение фрагмента размером не менее 0,5 см, недопущение чрезмерного механического сдавления щипцами и высокотермического воздействия на биоптат.

2. Неправильная фиксация биологического материала. Описание: недостаточное количество фиксирующей жидкости в контейнере, использование неунифицированных фиксирующих жидкостей. Путь устранения: соблюдение соотношения объема биоптат / фиксирующая жидкость в соотношении 1:10 – 1:20, использование в качестве базового фиксатора формалина 10% нейтрального забуференного, срок фиксации – 24 часа.

3. Избыточная толщина и тангенциальная ориентация гистологического среза биоптата вульвы, препятствующие оценке цитологических и патогистологических признаков. Описание: гистологический срез проходит по касательной вдоль от оси биоптата, при микрорегулировке резкости посредством микровинта микроскопа в поле зрения определяется несколько слоев клеток. Путь устранения: при помещении биоптата в гистологическую кассету материал располагается строго вдоль оси биоптата, изготовить срезы меньшей толщины из парафинового блока – толщина среза ткани с парафинового блока не должна превышать 3-4 мкм.

4. Низкое качество подготовки ткани, заключенной в парафиновый блок. Описание: наличие выраженных искусственных изменений ткани, делающих оценку морфологических деталей клеток невозможной. Путь устранения: при невозможности морфологической интерпретации и иммунофенотипирования, повторить биопсию. Перед началом повторной подготовки материала проверить (и при необходимости скорректировать) используемые в лаборатории условия и продолжительность фиксации, вырезки, проводки, заливки в парафин, нарезки и окраски биоптата.

5. Неудовлетворительное качество ИГХ окрашивания. Описание: отсутствие ожидаемой экспрессии маркера, неспецифичное окрашивание, окрашивание низкой интенсивности, затрудняющее интерпретацию и т.д. Путь устранения: повторить окрашивание исследуемого биоптата на одном стекле с положительным и отрицательным контролем. При необходимости провести корректировку условий демаскировки антигена, времени экспозиции первичного антитела, его разведения (если применимо), экспозиции компонентов системы детекции, температурного режима лаборатории.

Приложение 1 «Протокол патогистологической оценки клинических и морфологических параметров при заболеваниях вульвы, сопровождающихся лейкоплакией»

Клиническая часть

ФИО	Пол: жен		
Возраст лет	№ биопсии	год	
Место (анатомическая зона) взятия биопсии вульвы и количество фрагментов ткани	_____		
Клинический диагноз	_____		
Анамнез заболевания	_____		
Давность заболевания	_____		
	лет	мес.	нед. (подчеркнуть)
Локализация поражения / поражений	Лобок, большие и малые половые губы, клитор, преддверие вульвы		
Характеристика элементов поражения	Пятно, бляшка, пузырек / пузырь, эрозия / язва (цвет, размер, количество, тенденция к сливанию)		
Проводимое лечение и эффект от него*	_____		
Экстрагенитальные заболевания кожи и слизистых оболочек	_____		
Предыдущие биопсии вульвы	№	Дата	
	Результаты:		

Гистологическая часть

Количество кусочков	_____
Наличие артефактов	_____
Зона вульвы	Лобок, большие и малые половые губы, клитор, преддверие вульвы (подчеркнуть)
Роговой слой	Отсутствует, нормальный (ортокератоз), кератоз / гиперкератоз (компактный, пластинчатый, ортогиперкератоз)
	Паракератоз есть нет (подчеркнуть)
Зернистый слой	Нормальный, гипо-, гипер- или агранулез (подчеркнуть)
Шиповатый слой	Не изменен, акантоз (мономорфный / немоморфный, регулярный / нерегулярный, степень выраженности _____, вариант: пилообразный, псориазиформный), истончение, атрофия (подчеркнуть)
Дополнительные характеристики	Спонгиоз, экзоцитоз клеток воспаления (указать _____); гидропическая дистрофия базальных кератиноцитов (очаговая / диффузная, слабовыраженная / выраженная); утолщение базальной мембраны многослойного плоского эпителия, внутриэпителиальные / субэпителиальные пузырьки или пузыри; дискератоз, апоптоз; эрозии / язвы, скоплений гиф или спор гриба в роговых массах (подчеркнуть)

Дисплазия		Нарушение стратификации / вызревания эпителия, степень (нижняя треть эпителия, нижние две трети, вся толщина). Состояние кератиноцитов: скваматизация, появление заметных ядрышек, анизонуклеоз, гиперхромия, кариомегалия, изменение тинкториальных особенностей ядер и цитоплазмы (подчеркнуть) Койлоцитоз / внутриядерные вирусные включения (ВПЧ-поражение) (подчеркнуть)
Митотическая активность		Нет, нормальные или атипические митозы (указать отдел эпителия: _____) (подчеркнуть)
Состояние дермы или субэпителиальной соединительной ткани	или	Вертикальный фиброз сосочков дермы, субэпителиальная гомогенизация коллагена (очаговая или диффузная) (подчеркнуть)
Характеристика инфильтрата	воспалительного	Распространенность (очаговый или диффузный, поверхностный или глубокий), характер (периваскулярный, перифолликулярный, перисирингиальный, периневтральный, лихеноидный) и состав воспалительного инфильтрата (лимфоциты, плазмоциты, гистиоциты, мастоциты, эозинофилы, нейтрофилы) (подчеркнуть)
Состояние сосудов		Склероз, васкулит или васкулопатия (подчеркнуть)
Дополнительные характеристики субэпителиальной ткани		Недержание пигмента, цитоидные тельца (поодиночке, группами), эластоз, фибриноидный некроз субэпителиального коллагена (подчеркнуть)
Состояние придатков кожи		Атрофия, исчезновение, гиперплазия, эктазия волосяных фолликулов; утолщение фолликулярной базальной мембраны, гидропическая дистрофия кератиноцитов в базальных отделах эпителия волосяного фолликула, спонгиоз фолликулярного эпителия (подчеркнуть)

Гистохимическое исследование

Орсеин	Наличие / отсутствие эластических волокон в субэпителиальной зоне (подчеркнуть)
ШИК-реакция	Утолщение эпителиальной базальной мембраны Наличие гиф или спор гриба в роговых массах

Иммуногистохимическое исследование

p53	Паттерны: положительный, «дикий» тип, отрицательный, «нулевой» (подчеркнуть) Индекс маркировки
p16	Паттерны: положительный, отрицательный (подчеркнуть)
Ki-67	Паттерны: в нижней трети, в нижних двух третях, во всей толще эпителиального пласта (подчеркнуть) Индекс маркировки

*Если проводилось местное или системное лечение биопсию следует выполнять спустя 2-4 недели после отмены терапии

Приложение 2 «Иллюстрации к инструкции»

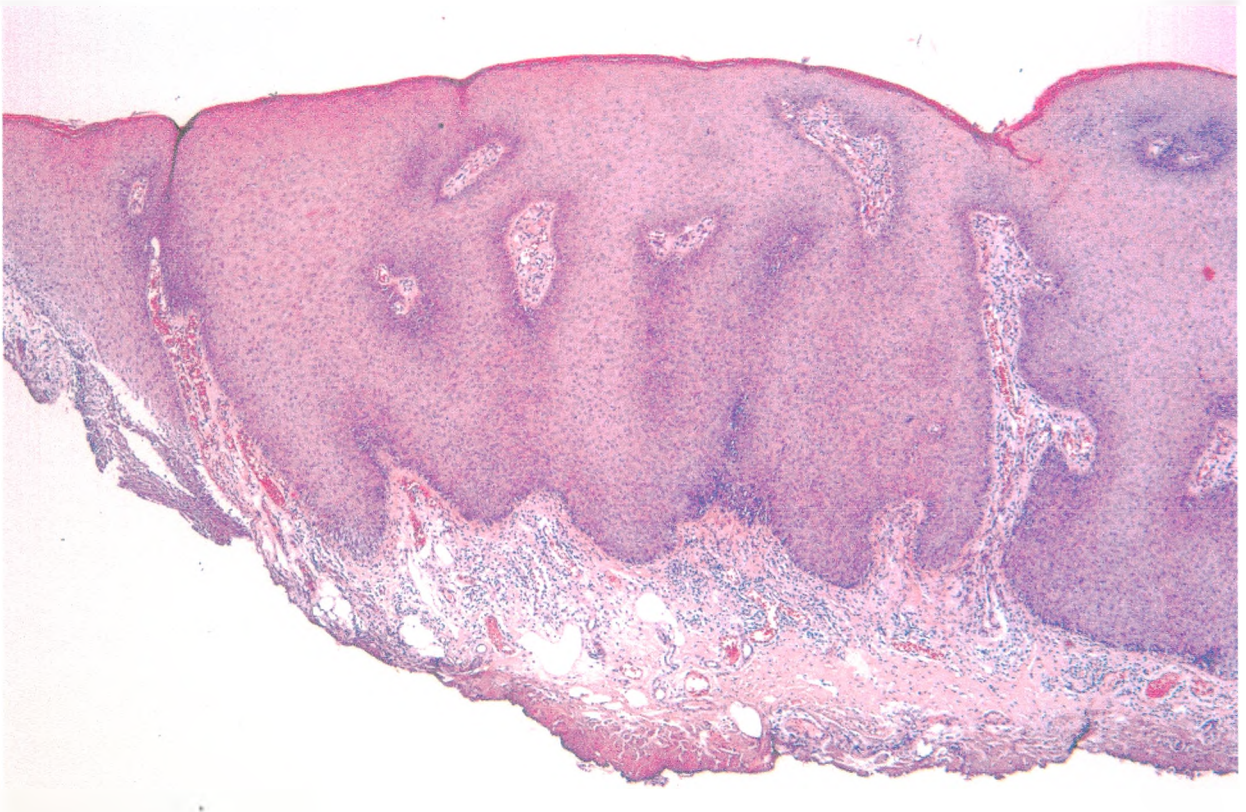


Рисунок 1. Плоскоклеточная гиперплазия вульвы, г/э, х25.

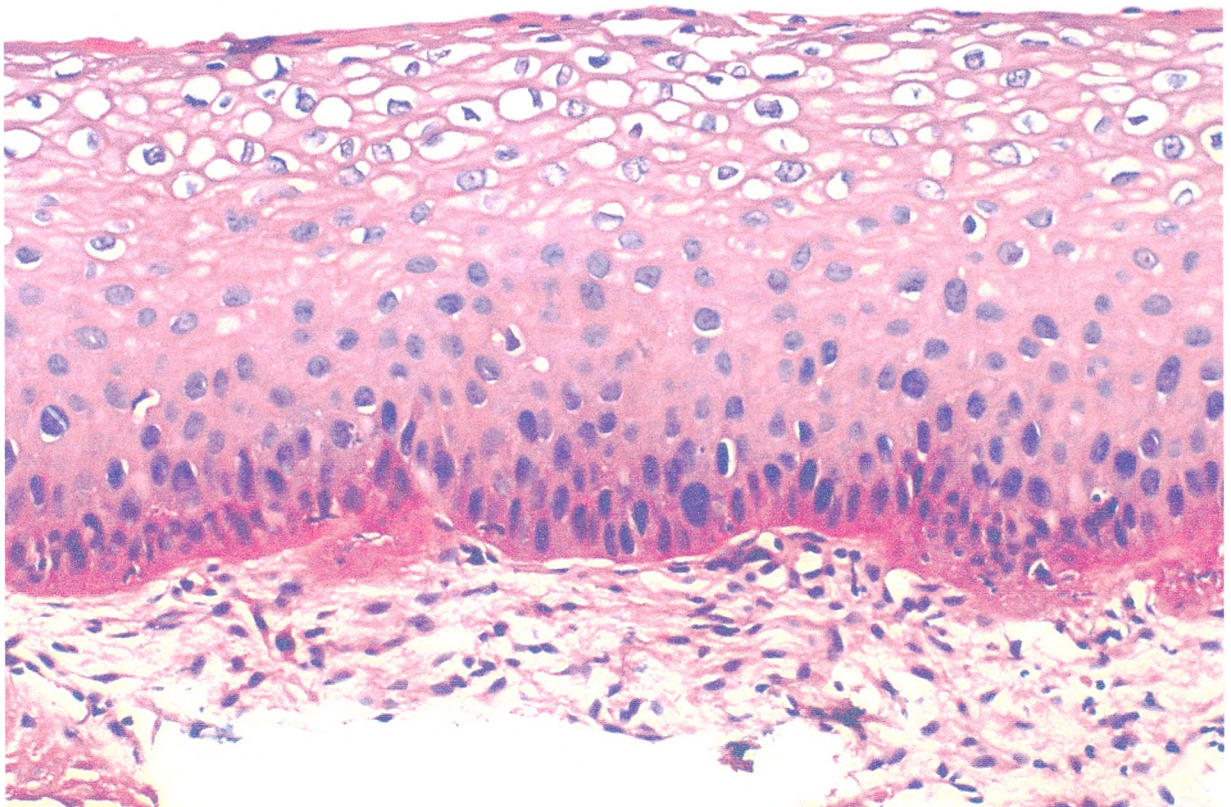


Рисунок 2. Низкоградное ПИП, г/э, х400.

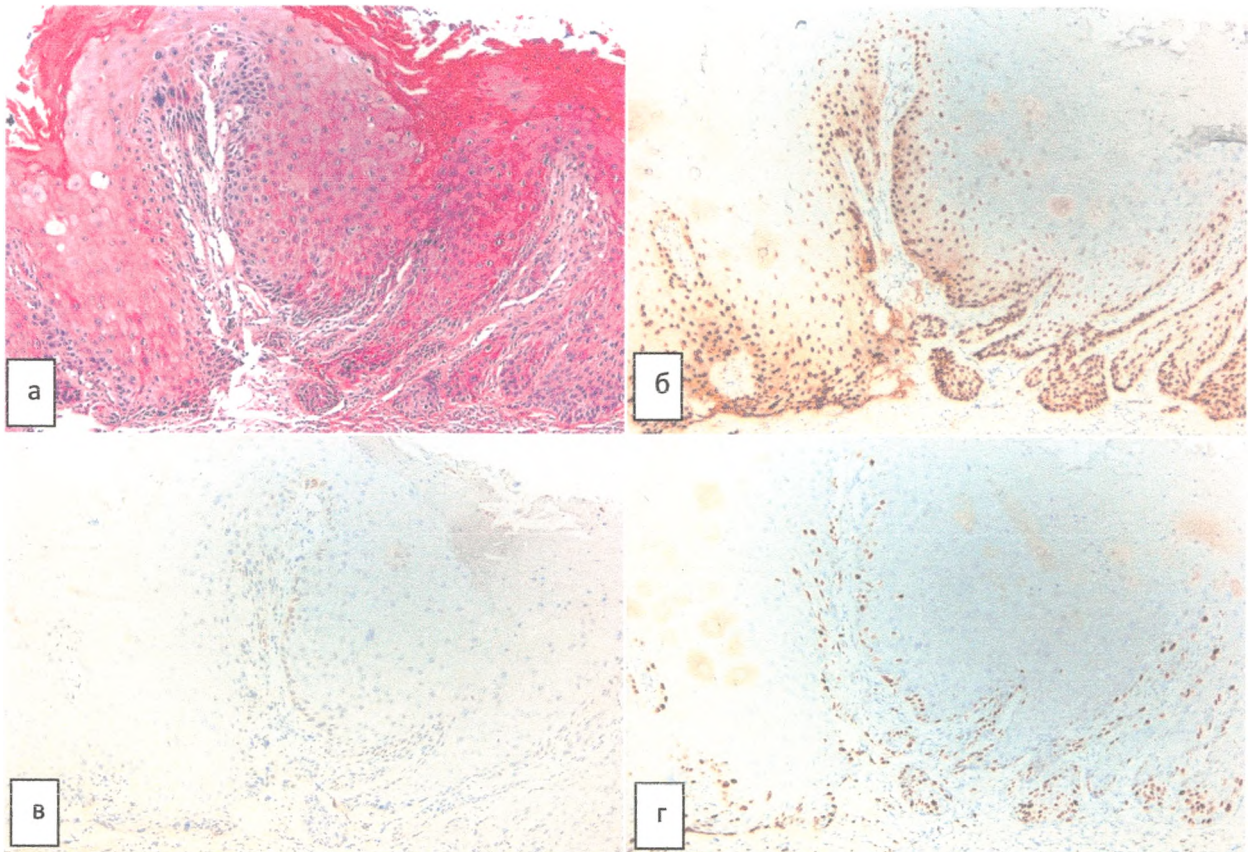


Рисунок 3 а-г. Дифференцированная ВИН: а – г/э, х200; б – положительный паттерн p53, х200; в – негативный паттерн p16, х200; г – экспрессия Ki-67, х200.

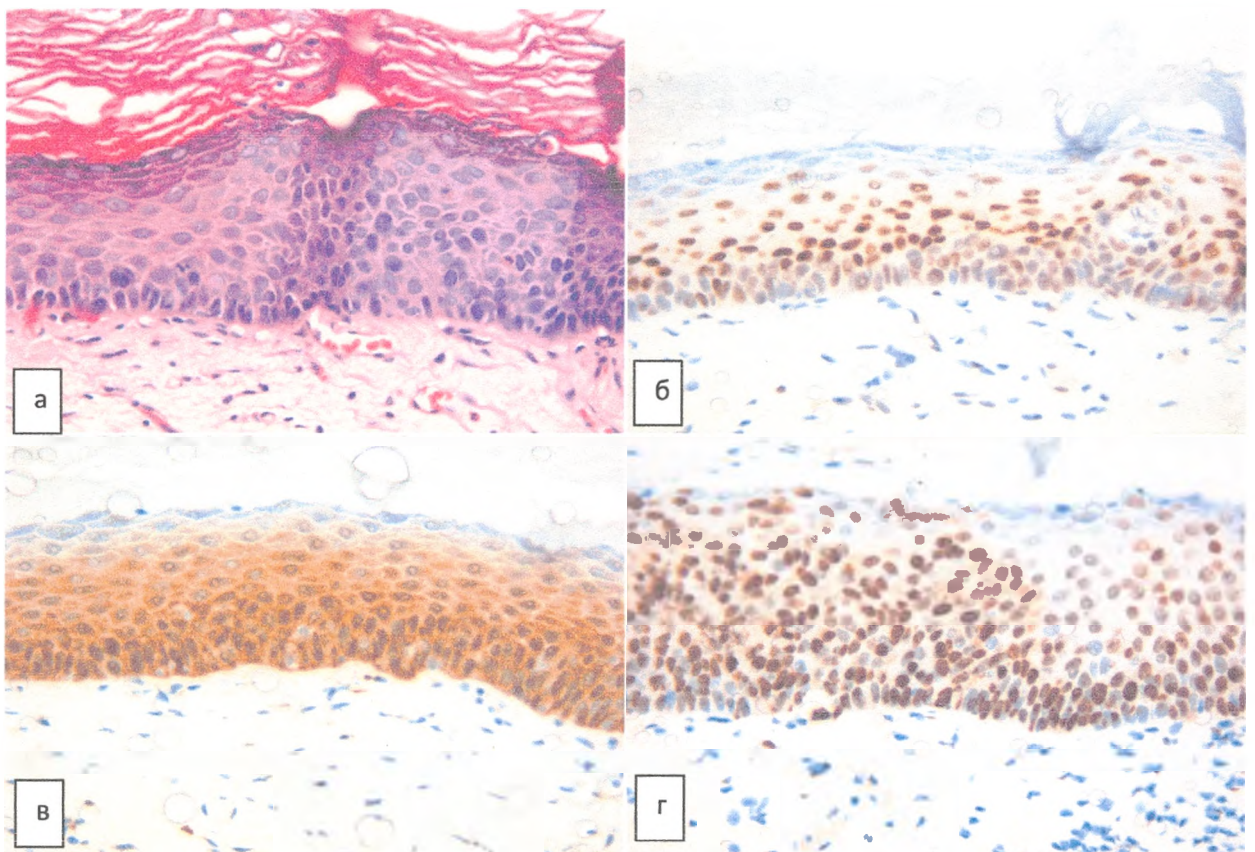


Рисунок 4 а-г. Высокогредное ППП: а – г/э, х400; б – негативный паттерн p53, х400; в – положительный «block-type» паттерн p16, х400; г – экспрессия Ki-67, х400.

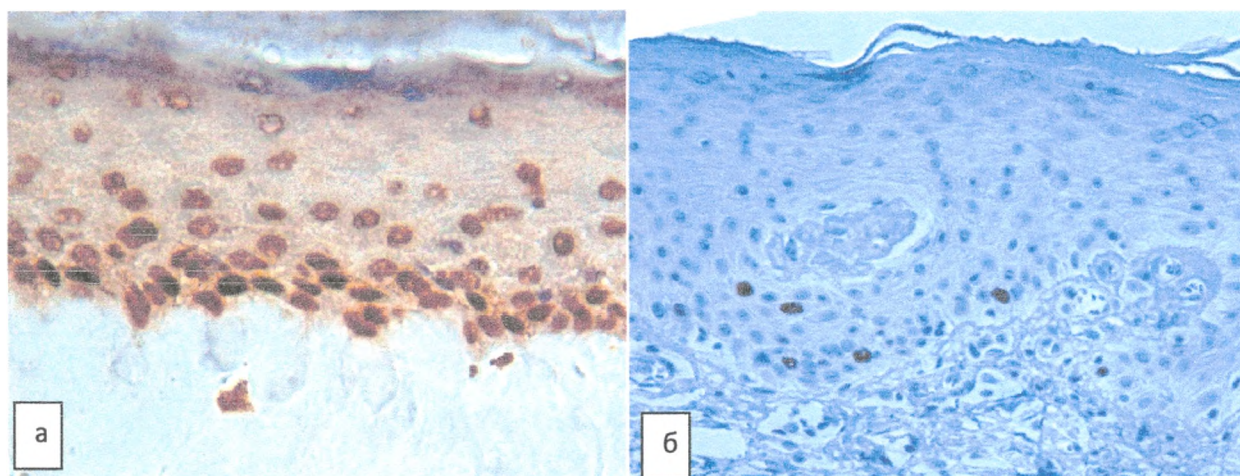


Рисунок 5 а-б. Экспрессия p53 и Ki-67 в вульварном склероатрофическом лихене: а – положительный паттерн экспрессии p53 с супрабазальным распространением, х400; б – экспрессия Ki-67 в базальных отделах покровного эпителия, х400.

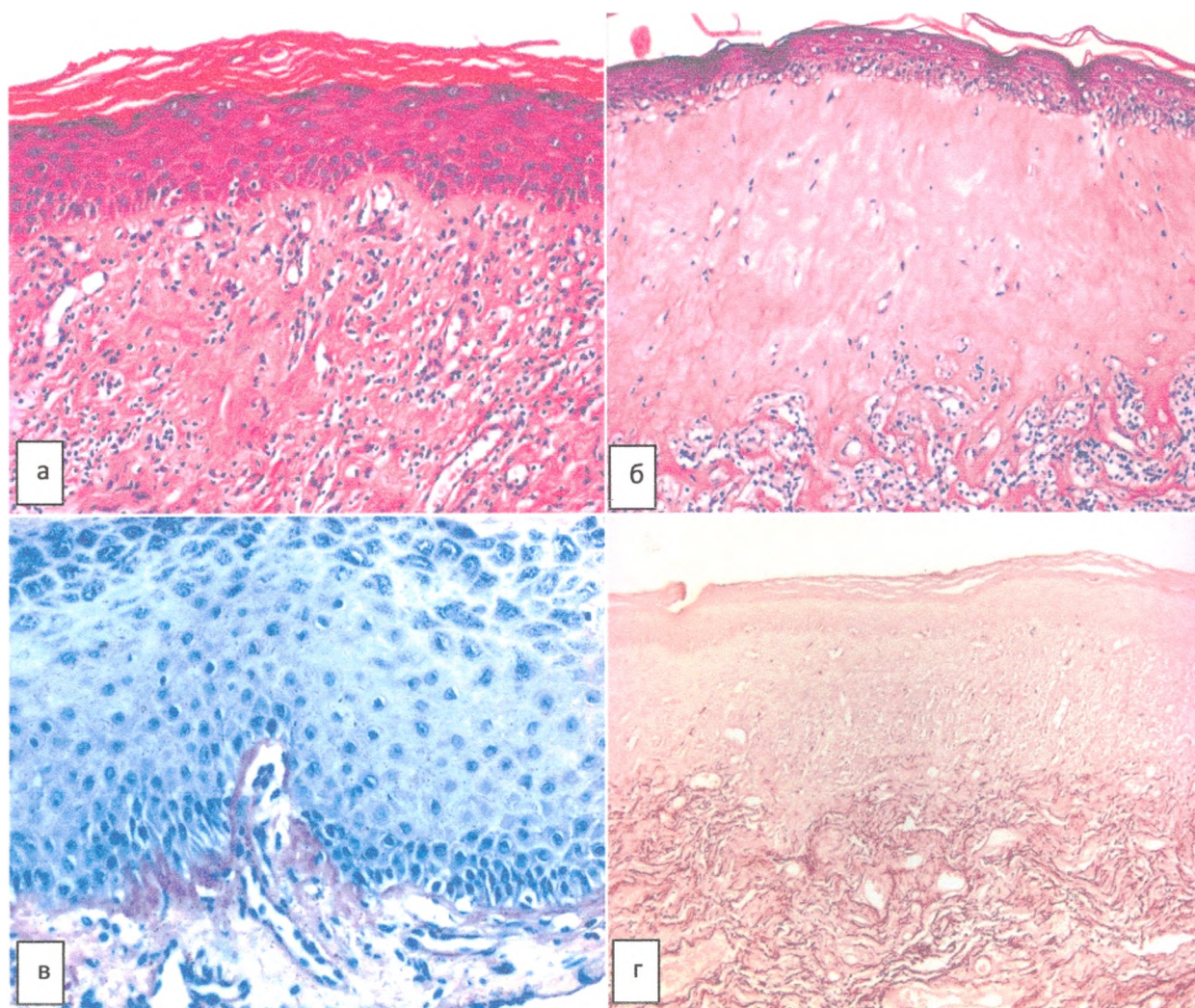


Рисунок 6 а-г. Морфологическое строение вульварного склероатрофического лихена: а – ранняя стадия, окрашивание гематоксилином и эозином (г/э), х400; б – поздняя стадия, г/э, х200; в – ранняя стадия, ШИК-реакция, х400; г – поздняя стадия, окрашивание орсеином, х200.

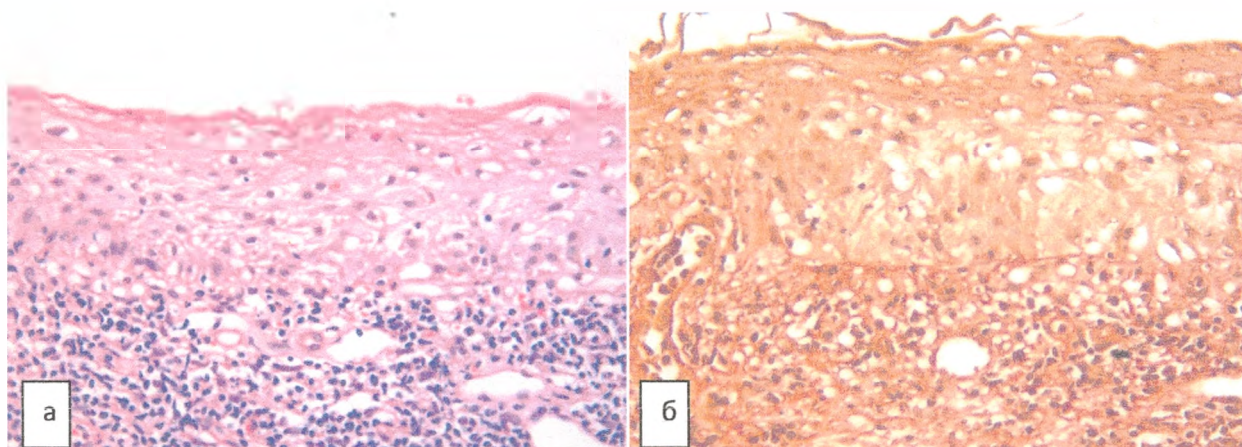


Рисунок 7 а-б. Морфологическое строение красного плоского лишая: а – г/э, х400; б – окрашивание орсеином, х400.

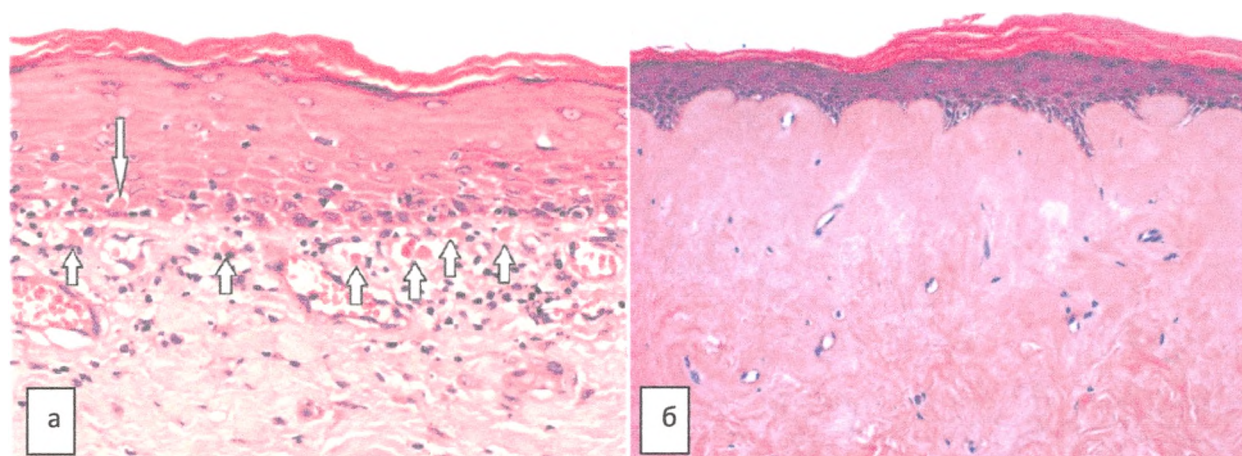


Рисунок 8 а-б. Морфологическое строение различных стадий склероатрофического лишая: а – САЛ ранней стадии с группами цитоидных телец (короткие стрелки) и сателлитарным клеточным некрозом (длинная стрелка), г/э, х400; б – САЛ поздней стадии с пилообразными изменениями атрофичного покровного эпителия, г/э, х200.

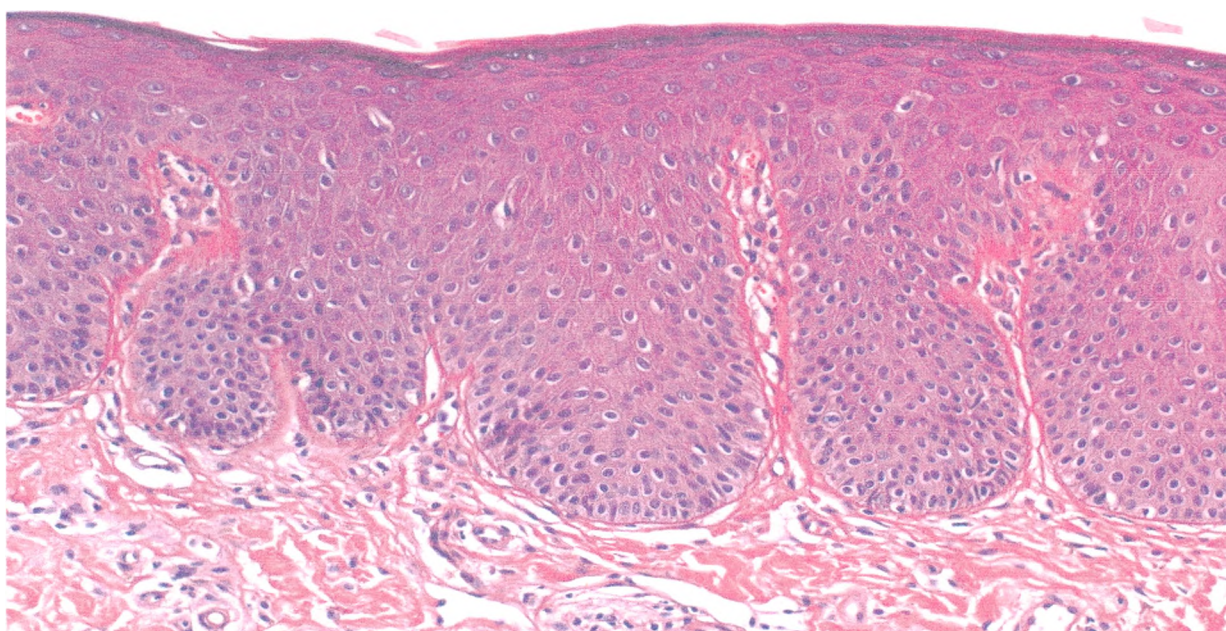


Рисунок 9. Морфологическое строение ЛПХ, г/э, х200.

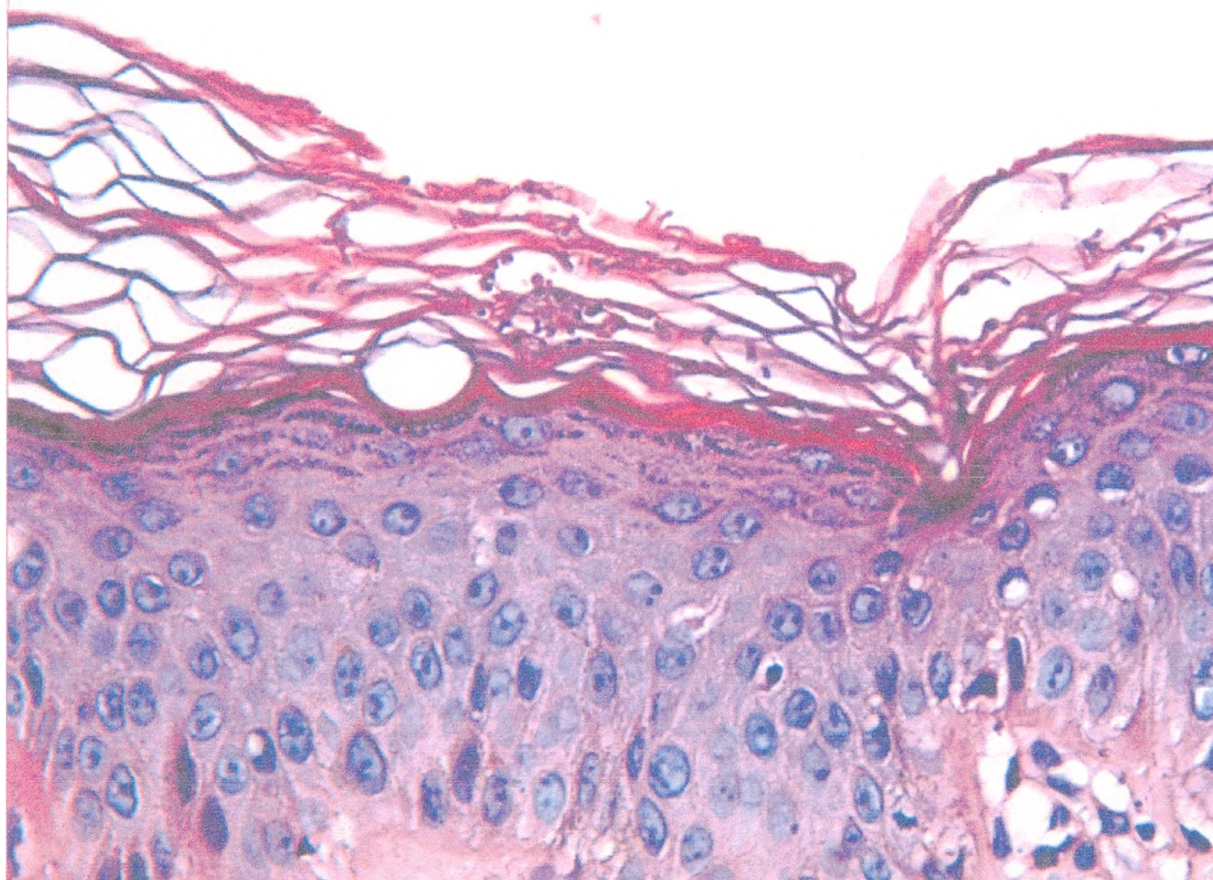


Рисунок 10. Дерматофитная инфекция. Споры и гифы гриба, г/э, х400.

Приложение 3 «Примеры морфологического заключения (диагноза)»

1. При наличии в препарате: а). пограничного дерматита, б). утолщенной ШИК-положительной эпителиальной базальной мембраны, в). разной степени выраженности субэпителиальной гомогенизации коллагена:

1.1. «Материал представлен фрагментом кожи вульвы с наличием пограничного дерматита, атрофии эпидермиса, утолщенной ШИК-положительной эпителиальной базальной мембраны, диффузной субэпителиальной гомогенизации коллагена, под которой отмечается слабовыраженный периваскулярный лимфогистиоцитарный воспалительный инфильтрат. При окрашивании орсеином выявлено тотальное исчезновение эластических волокон в зоне гомогенизации коллагена. Заключение: учитывая клинические данные, морфологическая картина соответствует поздней морфологической стадии склероатрофического лишена».

1.2. «Материал представлен фрагментом слизистой преддверия вульвы с наличием пограничного дерматита, утолщенной ШИК-положительной эпителиальной базальной мембраной, очаговой субэпителиальной гомогенизацией коллагена и умеренно выраженным лимфоплазмоцитарным воспалительным инфильтратом вокруг сосудов. Дополнительно отмечается плоскоклеточная гиперплазия покровного эпителия и дискератоз шиповатого слоя. При окрашивании орсеином выявлено очаговое исчезновение эластических волокон в зоне гомогенизации коллагена. Заключение: учитывая клинические данные, морфологическая картина соответствует ранней морфологической

стадии склероатрофического лишена с риском неопластической прогрессии (плоскоклеточная гиперплазия и дискератоз)».

2. При наличии в препарате лишеноидного дерматита без субэпителиальной гомогенизации коллагена:

«В исследованном препарате участок преддверия вульвы с наличием лишеноидного дерматита, со слабовыраженным кератозом и истончением эпителия, неравномерным спонгиозом, базальноклеточной реактивной атипией, наличием групп цитоидных телец. Заключение: вышеописанные изменения могут наблюдаться при красном плоском лишае и ранней стадии склероатрофического лишена. Рекомендуется клинико-морфологическая корреляция и консультация врача-дерматовенеролога».

3. При отсутствии в препарате специфических морфологических признаков:

«Морфологические изменения неспецифичны, включают паракератоз и скудный поверхностный периваскулярный лимфогистиоцитарный воспалительный инфильтрат с примесью эозинофилов. Рекомендуется клинико-морфологическая корреляция и, при необходимости, повторная биопсия».

4. При наличии в препарате ПИП:

«Фрагмент кожи вульвы с неравномерным акантозом, компактным гиперкератозом, наличием дисплазии в базально-супрабазальных отделах многослойного плоского эпителия и койлоцитоза. При ИГХ исследовании с использованием p16 и Ki-67 отмечается отсутствие экспрессии p16 и повышенная (5%) пролиферативная активность в базальных и надбазальных отделах многослойного плоского эпителия.

Заключение: НППП (плоская кондилома, ВПЧ-эффект, LSIL, дисплазия 1 степени с ВПЧ).»