

Особенности экспрессии BCL-6 и CD138 в лимфатических узлах при COVID-19

Светлана Александровна Калашникова¹✉, Ольга Вячеславовна Сучилина²,
Диана Валерьевна Натальченко¹

¹ Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

² Волгоградский областной клинический онкологический диспансер №1, Волгоград, Россия

Аннотация. Поражение лимфатических узлов (ЛУ) при COVID-19 сопровождается выраженными морфофункциональными изменениями, затрагивающими как структуру, так и клеточный состав органов. **Цель.** Провести морфологическое и иммуногистохимическое исследование при помощи маркеров BCL-6 и CD138 лимфатических узлов пациентов, умерших от лабораторно подтвержденного COVID-19. **Материал и методы.** Был проведен анализ лимфатических узлов бронхолегочной группы 30 пациентов, умерших от лабораторно подтвержденной тяжелой формы COVID-19. В качестве группы сравнения использовался аутопсийный материал лимфатических узлов бронхолегочной группы пациентов, смерть которых не была связана с инфекцией SARS-CoV-2. Патоморфологическое исследование проводилось путем стандартной окраски гематоксилином и эозином, для иммуногистохимического анализа использовались моноклональные антитела к BCL-6 и CD138. Статистический анализ данных проводился с использованием методов описательной и аналитической статистики при помощи программного обеспечения Prism 10.4.1 (GraphPad Software Inc., США). **Результаты.** В условиях вирусной инфекции COVID-19 макро- и микроскопически наблюдалось увеличение лимфатических узлов, гистологически были отмечены деплеция лимфоидной ткани, утрата или гипоплазия герминативных центров (~90 %), синус-гистиоцитоз, микротромбозы. По результатам иммуногистохимического анализа были выявлены статистически значимые различия в образцах тканей лимфатических узлов обследуемых групп, свидетельствующие о снижении доли крупных BCL-6⁺ зон и увеличении мелких BCL-6⁺ структур ($p = 0,008$) в лимфатических узлах пациентов с COVID-19 по сравнению с контрольной группой. Также были зафиксировано повышение суммарной площади крупных CD138⁺ скоплений и доли мелких CD138⁺ структур ($p = 0,004$). **Заключение.** Вирусная инфекция вызывает тяжелые поражения ЛУ, характеризующиеся разрушением архитектуры фолликулов и нарушением взаимодействия иммунных клеток. ЛУ при COVID-19 демонстрируют срыв герминативной реакции (снижение BCL-6) и выраженную плазмощитарную инфильтрацию (увеличение CD138), что указывает на смещение к экстрафолликулярному гуморальному ответу. Полученные данные важны для понимания механизмов иммунной дисфункции при COVID-19 и могут служить морфологической основой для разработки новых иммуномодулирующих стратегий лечения.

Ключевые слова: COVID-19, лимфатические узлы, BCL-6, CD138, иммуногистохимия

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

doi: <https://doi.org/10.19163/1994-9480-2025-22-4-66-70>

Morphological and immunohistochemical changes in lymph nodes in COVID-19: features of BCL-6 and CD138 expression

Svetlana A. Kalashnikova¹✉, Olga V. Suchilina², Diana V. Natalchenko¹

¹ Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

² Volgograd Regional Clinical Oncology Center No. 1, Volgograd, Russia

Abstract. Lymph node involvement in COVID-19 is accompanied by significant morphofunctional changes affecting both the structure and cellular composition of organs. **Objective:** To conduct a comprehensive morphological and immunohistochemical study using BCL-6 and CD138 markers on lymph nodes of patients who died from laboratory-confirmed COVID-19. **Materials and methods:** Autopsy specimens from 30 patients who died from laboratory-confirmed severe COVID-19 were analyzed. Autopsy specimens from the bronchopulmonary lymph nodes of patients whose death was not associated with SARS-CoV-2 infection served as a comparison group. Pathological examination was performed using standard hematoxylin and eosin staining, and monoclonal antibodies to BCL-6 and CD138 were used for immunohistochemistry. Statistical analysis of the data was performed using descriptive and analytical statistics methods with Prism 10.4.1 software (GraphPad Software Inc., USA). **Results:** Under the conditions of the COVID-19 viral infection, an increase in lymph nodes is observed macro- and microscopically, histologically, depletion of lymphoid tissue, loss or hypoplasia of germinal centers (~90 %), sinus histiocytosis, and microthrombosis are noted. According to the results of immunohistochemical analysis, statistically significant differences were revealed in tissue samples, indicating a decrease in the proportion of large BCL-6⁺ zones and an increase in small BCL-6⁺ structures ($p = 0.008$) in the lymph nodes of patients with COVID-19 compared to the control group. An increase in the total area of large CD138⁺ clusters and the proportion of small CD138⁺ structures ($p = 0.004$) were also recorded. **Conclusion:** Viral infection causes severe lymph node damage, characterized by destruction of follicular architecture and disruption of immune cell interactions. Lymph nodes in COVID-19 demonstrate a disruption of the germinal

response (\downarrow BCL-6) and pronounced plasma cell infiltration (\uparrow CD138), indicating a shift toward an extrafollicular humoral response. These data are important for understanding the mechanisms of immune dysfunction in COVID-19 and may serve as a morphological basis for the development of new immunomodulatory treatment strategies.

Keywords: COVID-19, lymph nodes, BCL-6, CD138, immunohistochemistry

Вспышка новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, привела к глобальной пандемии и серьезному пересмотру патогенеза респираторных заболеваний [1]. Танатогенез COVID-19, выходящий далеко за пределы легочного поражения, включает в себя: системный воспалительный ответ (SIRS), коагулопатии, нарушения иммунной регуляции («цитокиновый шторм») и синдром полиорганного поражения (СПОН) [2, 3]. Одним из важнейших звеньев иммунного ответа на вирусную инфекцию являются морфологические изменения в лимфатических узлах – ключевых органах вторичного иммунного ответа, в которых происходит активация и дифференцировка В- и Т-лимфоцитов, продукция антител и формирование иммунной памяти [2].

Изучение морфологических и иммуногистохимических изменений в лимфатических узлах у пациентов, умерших от COVID-19, позволяет глубже понять особенности патогенеза заболевания, включая нарушения гуморального и клеточного иммунитета [1, 4]. Особый интерес представляет исследование экспрессии BCL-6 – транскрипционного фактора, ключевого для образования герминативных центров и дифференцировки фолликулярных Т-хелперов [1], а также CD138 – маркера плазматических клеток, участвующих в продукции антител [2].

Существующие в настоящее время публикации описывают изменения при COVID-19 в легких, почках, сердце и печени [1, 3]. Однако морфологические изменения лимфатических узлов, особенно с иммуногистохимическим анализом, представлены ограниченно, что и обуславливает актуальность данного исследования.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Комплексное морфологическое и иммуногистохимическое исследование при помощи маркеров BCL-6 и CD138 лимфатических узлов у пациентов, умерших от лабораторно подтвержденного COVID-19.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящем исследовании были проанализированы образцы тканей, полученные при аутопсиях 30 пациентов (22 женщин и 8 мужчин), умерших от лабораторно подтвержденной тяжелой формы новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Средний возраст обследованных составил ($66 \pm 6,5$) года; при этом среди женщин – ($65 \pm 4,8$); среди мужчин – ($70 \pm 6,9$) года.

В качестве группы сравнения использовался аутопсийный материал лимфатических узлов бронхолегочной группы пациентов, смерть которых не была связана с инфекцией SARS-CoV-2. Средний возраст в контрольной группе также составил ($66 \pm 2,6$) года.

Лимфатические узлы были фиксированы в 10%-м нейтральном забуференном формалине. Патоморфологическое исследование проводилось с использованием стандартной методики окраски гематоксилином и эозином. Для иммуногистохимического анализа использовались моноклональные антитела к BCL-6 (Abcam, Великобритания) и CD138 (Abcam, Великобритания). Иммуногистохимическое окрашивание проводилось на автоматической системе ST5010 AXL Leica CV5030 Leica.

Полуколичественный анализ экспрессии BCL-6 и CD138 проводился в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Макроскопически лимфатические узлы были увеличены, отечные, серо-красного цвета, покрыты капсулой. Длина лимфатических узлов была ($9,72 \pm 4,05$) мм. При гистологическом исследовании в большинстве случаев выявлялась выраженная редукция лимфоидной ткани, проявлявшаяся значительным уменьшением числа лимфоцитов как в корковой, так и в паракортикальной зонах. В 90 % наблюдений отмечалось отсутствие герминативных центров вследствие выраженной гипоплазии или полной утраты фолликулярной структуры. Морфологическая картина сопровождалась развитием выраженного макрофагального ответа с наличием многочисленных макрофагов, демонстрирующих активный фагоцитоз, включая гемофагоцитоз. Кроме того, наблюдались признаки нарушения архитектоники лимфоидной ткани с размытостью фолликулярных контуров, расширением синусов и формированием отдельных участков некроза. Характерными находками являлись тромбозы мелких сосудов, преимущественно локализованные в паракортикальной области.

Лимфатические узлы из группы сравнения макроскопически овальной формы, размерами от ($7,36 \pm 3,82$) мм, с четкими контурами. Капсула напряженная, толщиной около 0,5 мм, серо-розового цвета. На разрезе ткань узла серо-розовая, однородная, без участков некроза или кровоизлияний, корково-мозговое разграничение четко выражено.

Микроскопически структура лимфатического узла характеризовалась сохраненной архитектурой с четким разделением кортикальной и мозговой зон. В кортикальной зоне выявлялись многочисленные вторичные лимфатические фолликулы с хорошо выраженными герминативными центрами. Паракортикальная зона представлена диффузной лимфоидной тканью с преобладанием мелких и средних лимфоцитов. Синусы были

умеренно расширены, наполнены макрофагами и небольшим количеством плазматических клеток.

При анализе экспрессия BCL-6 в контрольной группе наблюдалась отчетливая экспрессия BCL-6 в ядрах клеток герминативных центров. В лимфоузлах пациентов с COVID-19 экспрессия BCL-6 была существенно снижена или отсутствовала. В оставшихся наблюдалась слабая фокальная экспрессия, преимущественно в одиночных фолликулах (рис. 1).

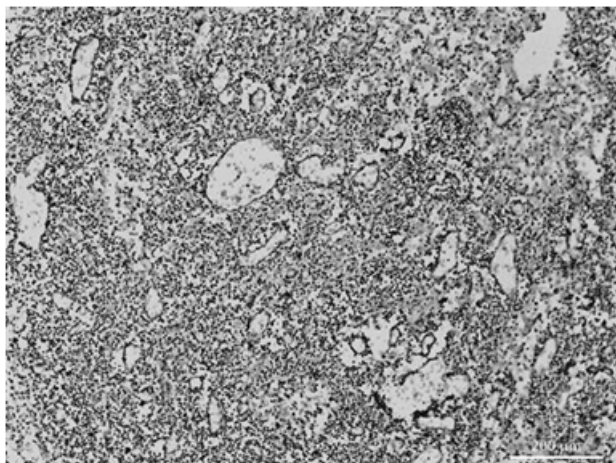


Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание лимфатического узла на CD138 у пациента с COVID-19. Отмечается диффузное распределение большого количества CD138-позитивных плазматических клеток с интенсивной цитоплазматической экспрессией маркера, на фоне истонченной лимфоидной ткани. Увеличение $\times 200$

Для количественной оценки активности герминативных центров было проведено морфометрическое измерение доли площади окрашивания по маркеру BCL-6 в двух группах: пациенты, умершие от COVID-19, и контрольная группа (без SARS-CoV-2).

В группе COVID-19 средний процент окрашенной площади, соответствующей крупным герминативным центрам, составил 93,55 % [91,80–95,29 %]. Доля мелких положительных структур составила в среднем 6,12 % [4,56–7,67 %].

В контрольной группе средний показатель окрашивания крупных областей был выше – 96,96 % [95,98–97,94 %], а доля мелких объектов значительно ниже – 2,00 % [1,04–2,96 %].

Сравнительный анализ с использованием критерия Манна – Уитни выявил статистически значимые различия по доле мелких положительных структур ($U = 3,0$; $p = 0,002$), что указывает на более выраженное присутствие мелких BCL-6⁺ скоплений в лимфатических узлах пациентов с COVID-19. Различия по доле крупных герминативных центров также достигли статистической значимости ($U = 5,0$; $p = 0,008$), что отражает частичное снижение площади сохранных фолликулярных структур при коронавирусной инфекции.

В лимфатических узлах больных COVID-19 наблюдалось значительное увеличение числа CD138⁺ плазматических клеток, особенно в парафолликулярных и субкапсулярных зонах (рис. 2).

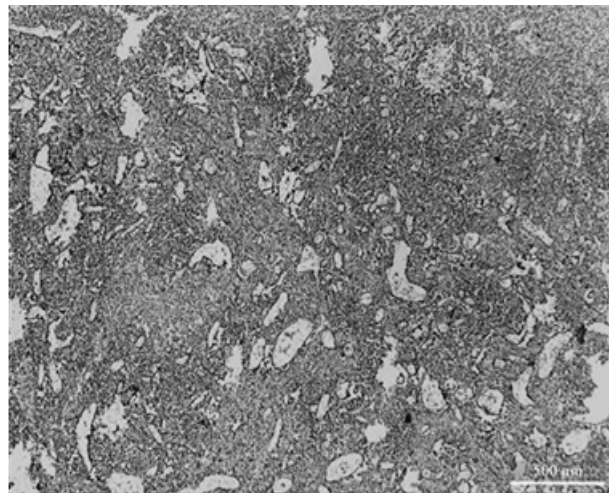


Рис. 2. Иммуногистохимическое окрашивание лимфатического узла на BCL-6 у пациента с COVID-19. Отмечается значительное разрежение лимфоидной ткани с редукцией и фрагментацией герминативных центров. Увеличение $\times 200$

Повышение числа CD138⁺ клеток без предшествующего активного герминативного ответа указывает на экстрафолликулярную дифференцировку В-клеток – процесс, приводящий к выработке низкоаффинных, нефункциональных антител, что потенциально может усугублять течение болезни.

Иммуногистохимическое исследование с использованием антител против CD138 позволило количественно оценить выраженность плазмочитарной инфильтрации в лимфатических узлах пациентов, умерших от COVID-19, и в контрольной группе без SARS-CoV-2.

В группе пациентов с COVID-19 средний показатель площади окрашивания, соответствующей крупным CD138-позитивным скоплениям, составил 97,0 % [96,1–97,9 %]. Средняя доля мелких CD138-позитивных структур была 7,8 % [5,9–9,7 %].

В контрольной группе аналогичные показатели были достоверно другими: средняя площадь крупных CD138-позитивных структур составила 92,2 % [90,3–94,1 %], а доля мелких структур – 3,0 % [2,1–3,9 %].

Сравнительный анализ, выполненный с использованием критерия Манна – Уитни, выявил статистически значимые различия по доле мелких CD138-позитивных структур между группами ($U = 8,0$; $p = 0,002$), а также по доле крупных скоплений ($U = 9,0$; $p = 0,004$).

Таким образом, у пациентов с COVID-19 была выявлена достоверно большая доля мелких CD138⁺ элементов и относительное уменьшение крупных скоплений плазматических клеток.

Для оценки выраженности экспрессии маркеров BCL-6 и CD138 в лимфатических узлах был проведен полуколичественный анализ, основанный на определении доли окрашенной площади в процентном соотношении по отношению к общей площади среза.

При иммуногистохимическом исследовании на BCL-6 у пациентов, умерших от COVID-19, в большинстве случаев отмечалась частичная редукция герминативных центров. Анализ экспрессии CD138 показал достоверное увеличение площади плазматических элементов в группе COVID-19. Средняя доля CD138-позитивных клеток в форме крупных компактных скоплений на 4,8 % больше. При этом доля мелких CD138-позитивных структур в основной группе была выше в 2,6 раза, чем в контроле ($p = 0,003$), что отражало активацию и миграцию плазматических клеток.

В совокупности данные полуколичественного анализа демонстрируют, что при тяжелом течении COVID-19 наблюдаются характерные морфологические изменения лимфатических узлов, включающие частичное истощение В-фолликулов с фрагментацией герминативных центров и значительное усиление плазмочитарной инфильтрации.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при тяжелом течении COVID-19 в лимфатических узлах происходит существенная перестройка плазмочитарного звена иммунного ответа, проявляющаяся достоверным увеличением площади мелких CD138-позитивных структур ($p < 0,01$), снижением доли крупных компактных плазмочитарных скоплений ($p < 0,01$).

Эти морфологические изменения подтверждают активацию и перераспределение плазмочитов при SARS-CoV-2-инфекции, что согласуется с известными патогенетическими механизмами гиперактивации гуморального иммунитета.

Результаты проведенного исследования продемонстрировали, что при тяжелом течении COVID-19 в лимфатических узлах бронхолегочной группы развиваются комплексные морфофункциональные изменения, затрагивающие как клеточный состав, так и архитектуру лимфатических узлов. Обнаруженные макроскопические признаки увеличения и отека ЛУ согласуются с ранее опубликованными данными о развитии гиперергической реакции и активации воспалительных медиаторов у пациентов с коронавирусной инфекцией.

Гистологическое исследование выявило выраженную деплецию лимфоидной ткани, исчезновение или редукцию герминативных центров и нарушение архитектоники фолликулярных структур. Подобные изменения рассматриваются как следствие гиперпродукции провоспалительных цитокинов, нарушения взаимодействия В-клеток и фолликулярных Т-хелперов, а также прямого повреждающего действия вируса. Существенное снижение экспрессии

BCL-6, показанное как в полуколичественном анализе, так и при морфометрии, свидетельствует об ослаблении активности центробластов и нарушении процессов формирования герминативных центров. Эти данные подтверждают гипотезу о том, что SARS-CoV-2-инфекция препятствует полноценному созреванию В-клеток в лимфоидной ткани и снижает эффективность гуморального ответа.

В то же время отмечено достоверное увеличение экспрессии CD138 и числа плазматических клеток, преимущественно локализованных вне фолликулов. Этот феномен отражает активацию экстрафолликулярного пути дифференцировки В-клеток, сопровождающегося продукцией преимущественно низкоаффинных антител, что может способствовать недостаточной элиминации вируса и усилению воспалительных повреждений тканей.

Статистически значимые различия между группами ($p < 0,01$) как по доле окрашивания BCL-6, так и по экспрессии CD138, позволяют считать выявленные изменения достоверными и характерными для лимфатических узлов при SARS-CoV-2-инфекции (рис. 3).

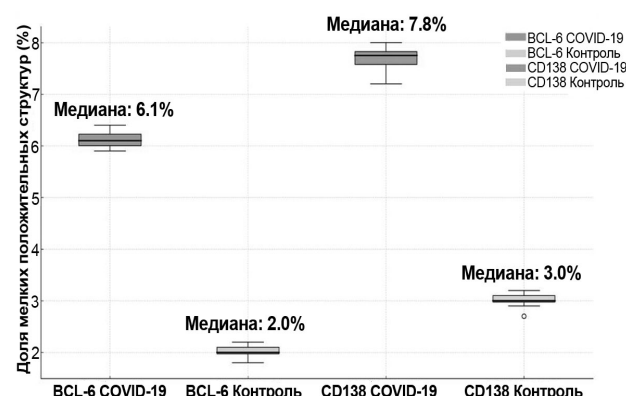


Рис. 3. Распределения доли мелких BCL-6- и CD138-позитивных структур в лимфатических узлах пациентов, умерших от COVID-19, и лиц контрольной группы

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

COVID-19 вызывает тяжелые поражения лимфатических узлов, характеризующиеся деплецией лимфоцитов, разрушением архитектуры фолликулов и нарушением взаимодействия иммунных клеток.

Полученные данные важны для понимания механизмов иммунной дисфункции при COVID-19 и могут служить морфологической основой для разработки новых иммуномодулирующих стратегий лечения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Kaneko N., Kuo H.H., Boucau J., Farmer J.R., Allard-Chamard H., Mahajan V.S. et al. Loss of Bcl-6-expressing T follicular helper cells and germinal centers in COVID-19. *Cell*. 2020;183(1):143–157. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.025/

2. Chowdhury M.A., Hossain N., Kashem M.A., Shahid M.A., Alam A. Immune response in COVID-19: A review. *J Infect Public Health*. 2020;13(11):1619–1629. doi: 10.1016/j.jiph.2020.07.001.
3. Dorward D.A., Russel C.D., Um I.H., Elshani M., Armstrong S.D., Millare T. et al. Tissue-specific immunopathology in fatal COVID-19. *Am J Respir Crit Care Med*. 2021;203(2):192–201. doi: 10.1164/rccm.202008-3265OC.
4. Sette A., Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*. 2021;184(4):861–880. doi: 10.1016/j.cell.2021.01.007.

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

Этические требования соблюдены. Текст не сгенерирован нейросетью.

Информация об авторах

С.А. Калашникова – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; kalashnikova-sa@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0255-7801>

О.В. Сучилина – заведующая патологоанатомическим отделением, Волгоградский областной клинический онкологический диспансер, Волгоград, Россия; desireo@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0006-0016-9174>

Д.В. Натальченко – ассистент кафедры анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; natalchenko.d@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-8283-5293>

Статья поступила в редакцию 07.08.2025; одобрена после рецензирования 19.08.2025; принята к публикации 18.11.2025.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Ethical requirements are met. The text is not generated by a neural network.

Information about the authors

S.A. Kalashnikova – MD, Professor, Head of the Department of Anatomy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; kalashnikova-sa@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0255-7801>

O.V. Suchilina – Head of the Pathology Department, Volgograd Regional Clinical Oncology Dispensary, Volgograd, Russia; desireo@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0006-0016-9174>

D.V. Natalchenko – Assistant Professor of the Department of Anatomy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; natalchenko.d@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-8283-5293>

The article was submitted 07.08.2025; approved after reviewing 19.08.2025; accepted for publication 18.11.2025.