

УДК 612.1 591.11

## ДИНАМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ РЕЛЬЕФА ПОВЕРХНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ СНИЖЕНИИ ОСМОЛЯРНОСТИ СРЕДЫ <sup>1</sup>

**М.Ю. Скоркина**<sup>1</sup>  
**М.З. Федорова**<sup>1</sup>  
**Е.А. Сладкова**<sup>1</sup>  
**Л.А. Косьминова**<sup>2</sup>

*Белгородский государственный  
национальный  
исследовательский  
университет,  
Россия, 308015, г. Белгород,  
ул. Победы, 85  
E-mail: skorkina@bsu.edu.ru*

*Белгородская областная клини-  
ческая больница святителя  
Иосафа, Россия, 308007,  
г. Белгород, ул. Некрасова, 8/9*

Методом полуконтактного АСМ-сканирования изучены структура и динамика рельефа поверхности лимфоцитов здоровых доноров и больных ХЛЛ при снижении осмолярности среды. На поверхности лимфоцитов установлено образование агрегированных доменов и выпячиваний в виде пузырьковых структур и конгломератов, которые появляются на мембране лимфоцитов больных ХЛЛ на 60 с раньше, чем у здоровых при снижении осмолярности среды, и на 60 с раньше у здоровых в изотоническом растворе по сравнению с больными ХЛЛ. При снижении осмолярности среды высота глобулярных образований увеличивается, а их количество снижается в группах здоровых доноров и больных ХЛЛ.

Ключевые слова: лимфоциты, хронический лимфобластный лейкоз, атомно-силовая микроскопия, рельеф поверхности.

### Введение

Транслокация компонентов биологических мембран в условиях осмотических воздействий оказывает существенное влияние на сродство поверхностных рецепторов к различным лигандам [1], изменяет функциональную активность ионтранспортирующих систем [2], адгезивные [3], метаболические и динамические свойства клеток [4]. Кроме того, в реакциях форменных элементов крови на осмотические силы, существенный вклад вносят актиновые филаменты, которые определяют жесткость клетки [5] и, являясь по своей природе упругим гелем, замедляющим осмотически управляемый ток воды [6]. Изучение рельефа поверхности клеток крови представляет интерес, поскольку определяет их функциональную состоятельность, изменяющуюся при различных патологиях [7]. Учитывая, что динамические перестройки в структуре цитоскелета отражаются на морфологии клеток [8], целью проведенного исследования явилось изучение динамики рельефа поверхности лимфоцитов здоровых доноров и больных хроническим лимфобластным лейкозом (ХЛЛ) при воздействии гипосмотической нагрузки.

### Материалы и методы

Эксперименты выполнены на периферической крови 100 здоровых доноров в возрасте от 25 до 45 лет и 50 больных ХЛЛ в возрасте от 17 до 46 лет. Использовали суспензию лейкоцитов, содержащую преимущественно лимфоциты из крови здоровых доноров и больных ХЛЛ. Лейкоциты получали путем центрифугирования цельной стабилизированной ЭДТА крови при 1500 об/мин в течение 10 мин. Удаляли верхний слой плазмы. Собирали нижнюю часть плазмы, богатую лейкоцитами и лейкоцитарное кольцо. Примесь эритроцитов разрушали 0,83% раствором хлорида аммония. Клетки дважды отмывали изотоничным буферным раствором (раствор Дульбекко, рН=7.4). Полученную суспензию лимфоцитов делили на две пробы по 10 мкл в каждой. К первой пробе добавляли 50 мкл 0,4% раствора хлорида натрия, ко второй – 50 мкл 0,9% раствор хлорида натрия. Инкубацию осуществляли в течение 900 с. Препараты для сканирования готовили на 30, 60, 90, 120, 150, 180, 300 и 900 с инкубации. Топографию поверхности клеток крови изучали с использованием атомно-силового микроскопа (АСМ) ИНТЕГРА Вита (конфигурация на базе инвертированного оптического микроскопа Olympus IX-71). Проводили сканирование 25 клеток из каждой опытной и контрольной пробы в полуконтактном режиме с частотой развертки 0,6–0,8 Hz, используя кантилевер серии NSG03, с жесткостью 1,1Н/м и радиусом закругления 10 нм. На полученных сканах с помощью программ-

<sup>1</sup> Работа выполнена в рамках реализации внутривузовского конкурса грантов 2011 г. на проведение исследований по приоритетным направлениям развития науки, технологий и техники.

ного обеспечения «Nova» (Зеленоград, 2009) строили кривые профиля участков поверхности размером 3,5x3,5 мкм, на которых промеряли морфологические образования поверхности: подсчитывали количество и измеряли высоту глобулярных выступов. Полученные экспериментальные данные статистически обработаны. Достоверность различий определяли с использованием *t* критерия Стьюдента.

### Результаты и их обсуждение

**Цитоархитектоника лимфоцитов здоровых доноров.** Структурные перестройки поверхности лимфоцитов в гипотонической среде сопровождались увеличением числа глобулярных выступов и углублений в мембране в интервале 30-90 с инкубации (рис. 1 *1a – 1в*). В изотоническом растворе в этот период наблюдалась тенденция к образованию пузырьков (рис. 1 *2a,2б*), которые образовывались на поверхности, начиная с 90 с инкубации (рис. 1 *2в*). На 120 с экспозиции на поверхности мембран в гипотонической среде преобладали углубления (рис. 1 *1г*), а в изотоническом растворе пузырьки объединялись и образовывали конгломераты (рис. 1 *2г*). На 150 с инкубации в гипотонической среде на мембране лимфоцитов появлялись небольшие пузырьковые выросты, которые сохранялись до конца инкубации, при этом высота их уменьшалась, рельеф поверхности сглаживался (рис. 1 *1д-1з*). В изотоническом растворе на 150 с наблюдалась ярко выраженная шероховатость поверхности за счет большого количества мелких глобулярных выступов, в дальнейшем их количество уменьшалось, но в рельефе преобладали пузырьковые структуры до конца инкубации как в изо- (рис. 1 *2д-2з*), так и в гипотонической средах (рис. 1 *1д-1з*).

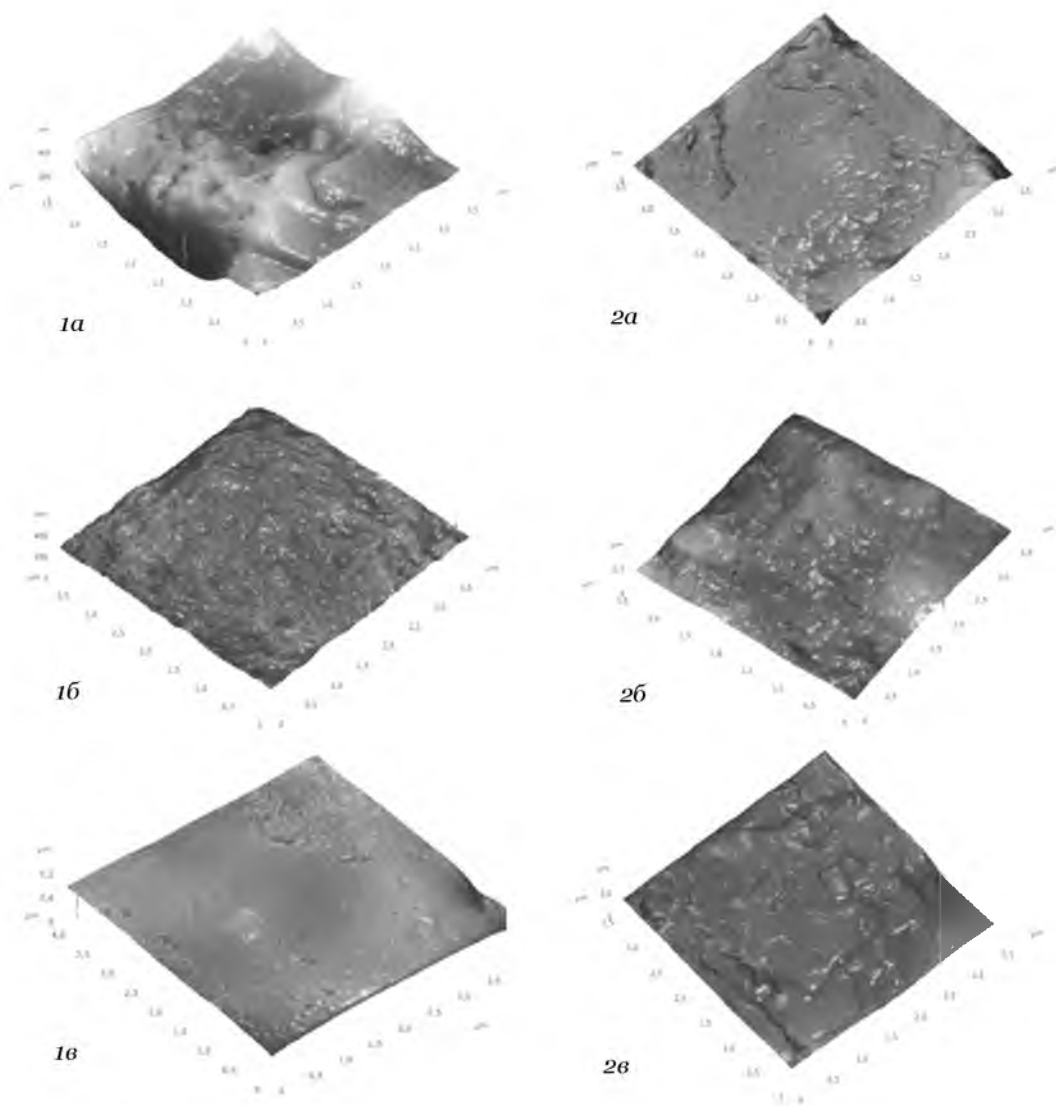
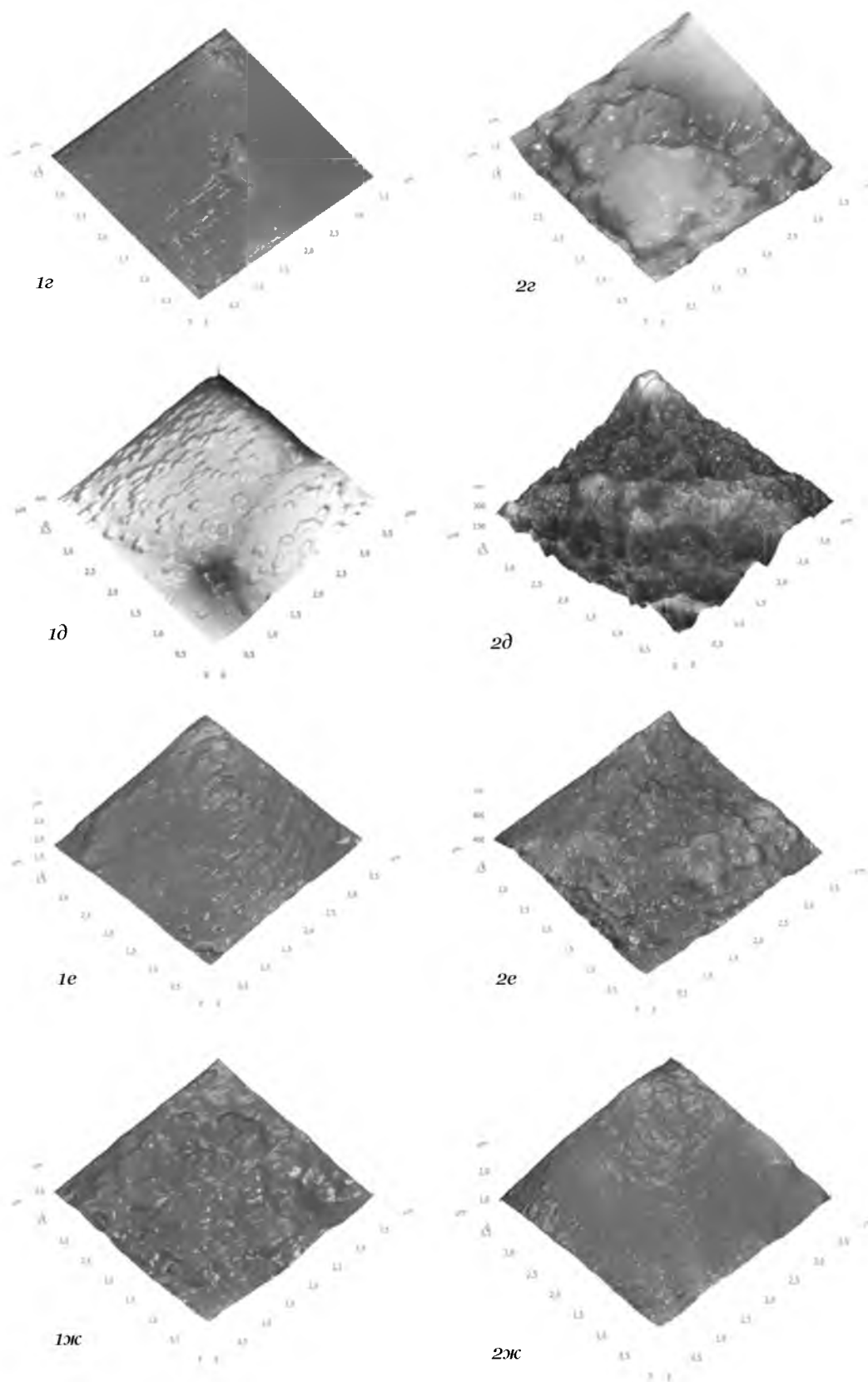


Рис. 1 продолжение. АСМ-изображения рельефа поверхности лимфоцитов здоровых доноров в гипо- (1) и изотоническом (2) растворах на: а – 30, б – 60, в – 90 секундах инкубации



*Рис. 1 продолжение.* АСМ-изображения рельефа поверхности лимфоцитов здоровых доноров в гипо- (1) и изотоническом (2) растворах на: г – 120, д – 150, е – 180, ж – 300 секундах инкубации

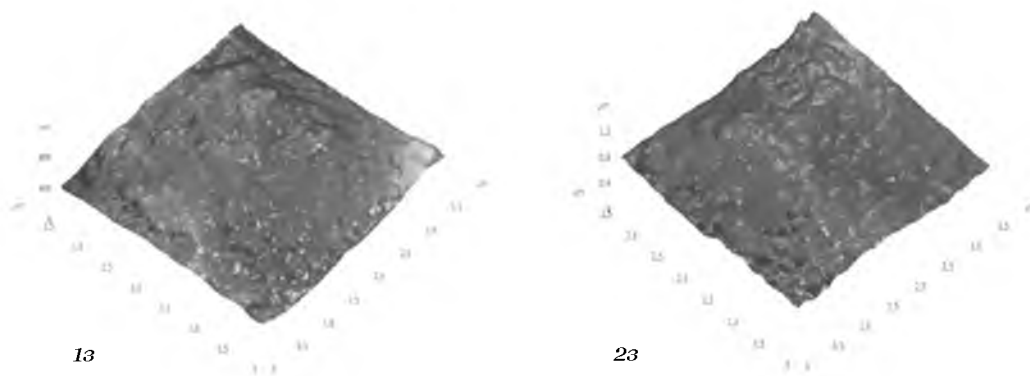


Рис. 1 окончание. АСМ-изображения рельефа поверхности лимфоцитов здоровых доноров в гипо- (1) и изотоническом (2) растворах на: 3 – 900 секундах инкубации

На 30 с инкубации количество глобулярных выступов снижалось на 78% ( $p < 0,05$ ), а их размеры возрастали на 37,5% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с изотоническим раствором (табл. 1).

Таблица 1  
Размеры и количество глобулярных выступов на поверхности лимфоцитов здоровых доноров при снижении осмолярности среды

Время инкубации, с	Гипотонический раствор		Изотонический раствор	
	Высота, нм	Количество	Высота, нм	Количество
30	35.82±2.45*	47±1.2*	22.39±1.90	84±2.9
60	20.58±1.08*	130±3.1*	36.39±4.05	22±0.4
90	20.45±1.61*	71±2.5*	82.67±7.16	34±1.9
120	21.08±2.75*	48±0.9	44.36±4.48	49±1.0
150	41.70±3.31	32±1.4*	38.27±2.70	154±5.2
180	27.86±2.09*	61±2.8*	46.17±5.27	25±1.3
300	28.92±1.76*	71±3.7*	50.05±6.59	32±4.6
900	24.28±2.06	76±3.1*	29.25±4.96	23±1.7

\*- Статистически достоверные различия между значениями в гипотоническом растворе по сравнению со значениями в изотоническом растворе по критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

На 60 с воздействия происходило резкое увеличение количества глобулярных выступов на поверхности мембраны лимфоцитов, помещенных в гипотонический раствор (490%;  $p < 0,05$ ), при этом их высота снижалась на 76,8% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с изотоническим раствором. В последующие 60 с инкубации в гипотоническом растворе сохранялась выявленная тенденция к увеличению числа глобулярных выступов при уменьшении их высоты. На 150 с достоверных различий в размерах выступов не обнаружено, но их количество уменьшалось на 381% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с изотоническим раствором. Начиная со 180 с и до конца экспозиции (900 с) установлено увеличение количества глобулярных выступов на фоне снижения их высоты.

Количество углублений на участке мембраны уменьшалось на 34,6% ( $p < 0,05$ ) через 30 с инкубации в гипотонической среде, при том существенно возрастал диаметр пор на 47% ( $p < 0,05$ ), а их глубина находилась в пределах не достоверных различий с изотоническим раствором (табл. 2).

Таблица 2  
Габаритные размеры углублений в мембране и их количество в рельефе лимфоцитов здоровых доноров при снижении осмолярности среды

Время инкубации, с	Гипотонический раствор			Изотонический раствор		
	Диаметр, нм	Глубина, нм	Количество	Диаметр, нм	Глубина, нм	Количество
1	2	3	4	5	6	7
30	428.0±72.1*	24.2±3.3	18±0.6*	225.8±15.5	21.3±2.3	52±1.3
60	301.8±11.4*	18.7±0.7*	117±1.4*	137.4±17.9	8.0±0.5	8±0.4
90	145.7±7.3*	10.6±0.6*	49±0.9*	177.5±13.1	22.2±3.7	4±0.1
120	173.6±3.7*	14.1±0.6	33±0.7*	155.1±14.3	15.7±3.7	10±0.9

Окончание таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7
150	209.3±1.9*	27.7±4.6*	7±0.2*	126.5±7.6	11.9±1.8	20±1.1
180	149.4±1.7*	7.5±0.9	16±0.5*	94.4±6.1	12.0±2.9	5±0.3
300	189.1±1.6*	15.1±1.7	7±0.1*	141.2±6.2	17.8±2.0	4±0.1
900	266.6±1.6*	21.5±1.7*	42±1.6*	93.2±8.0	6.08±1.1	5±0.7

\*- Статистически достоверные различия между значениями в гипотоническом растворе по сравнению со значениями в изотоническом растворе по критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

Выраженные изменения в цитоархитектонике поверхности лимфоцитов происходили на 60 с инкубации в гипотонической среде. В этот период увеличивалось количество углублений в мембране (на 136%;  $p < 0,05$ ), их габаритные размеры возрастали: диаметр – на 119,6% ( $p < 0,05$ ), глубина – на 133% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с изотоническим раствором. К 90 с инкубации диаметр и глубина пор в мембране уменьшались соответственно на 82,0 и 47,7% ( $p < 0,05$ ), но их количество по-прежнему превышало значения изотонической среды на 112% ( $p < 0,05$ ). Начиная со 120 с и до конца инкубации (900 с) габаритные размеры пор в мембране увеличивались в условиях снижения осмолярности среды, при этом их количество возрастало к 120 с – на 230% ( $p < 0,05$ ), а к 900 с – на 740% ( $p < 0,05$ ).

*Цитоархитектоника лимфоцитов больных ХЛЛ.* В рельефе поверхности больных лимфобластным лейкозом на 30 с инкубации как в гипотонической (рис. 2 1а), так и в изотонической средах (рис. 2 2а) наблюдали сглаженность рельефа. Глобулярные выступы присутствовали в незначительном количестве и не придавали поверхности ярко выраженной шероховатости, четко выделялись углубления в мембране лимфоцитов. Во временном интервале с 30 по 150 с экспозиции в гипотонической среде происходило структурирование и увеличение шероховатости клеточной поверхности (рис. 2 1б-1д). При этом, начиная с 90 с инкубации, наблюдалось появление пузырьковых структур (рис. 2 1в) с последующим их укрупнением, слиянием и образованием конгломератов (рис. 2 1г, 1д). В изотоническом растворе аналогичная ситуация укрупнения глобулярных структур и дальнейшей конгломерации наблюдалась начиная со 120 с и по 180 с экспозиции (рис. 2 2г-2е). На 180 с инкубации в гипотонической среде на поверхности наблюдались мелкие одиночные глобулярные выступы (рис. 2 1е). На 300 с инкубации в гипотонической среде рельеф поверхности лимфоцитов приобретал рифленый характер, в нем появлялись крупные углубления и пузырьковые глобулы (рис. 2 1ж), в то время как на мембране лимфоцитов, инкубированных в изотоническом растворе, присутствовали крупные глобулярные конгломераты и незначительное количество мелких углублений в мембране (рис. 2 2ж). К окончанию экспозиции (900 с) как в гипотонической (рис. 2 1з), так и в изотонической средах (рис. 2 2з), на поверхности лимфоцитов присутствовали глобулярные образования.

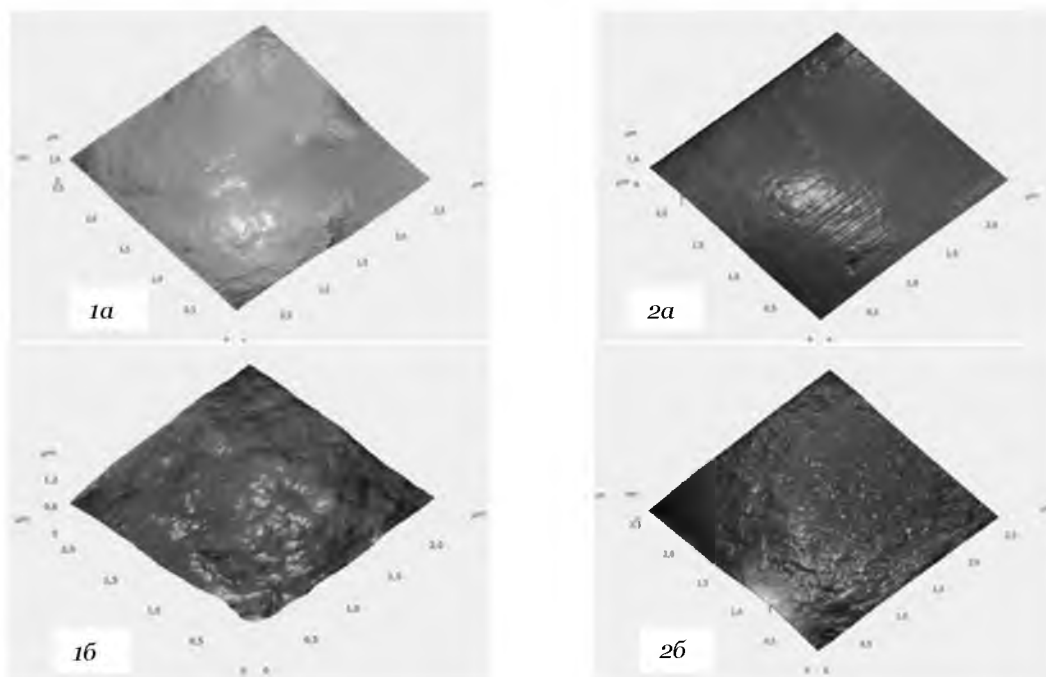


Рис. 2. Рельеф поверхности лимфоцитов больных ХЛЛ в гипо- (1) и изотоническом (2) растворах на: а – 30, б – 60 секундах инкубации

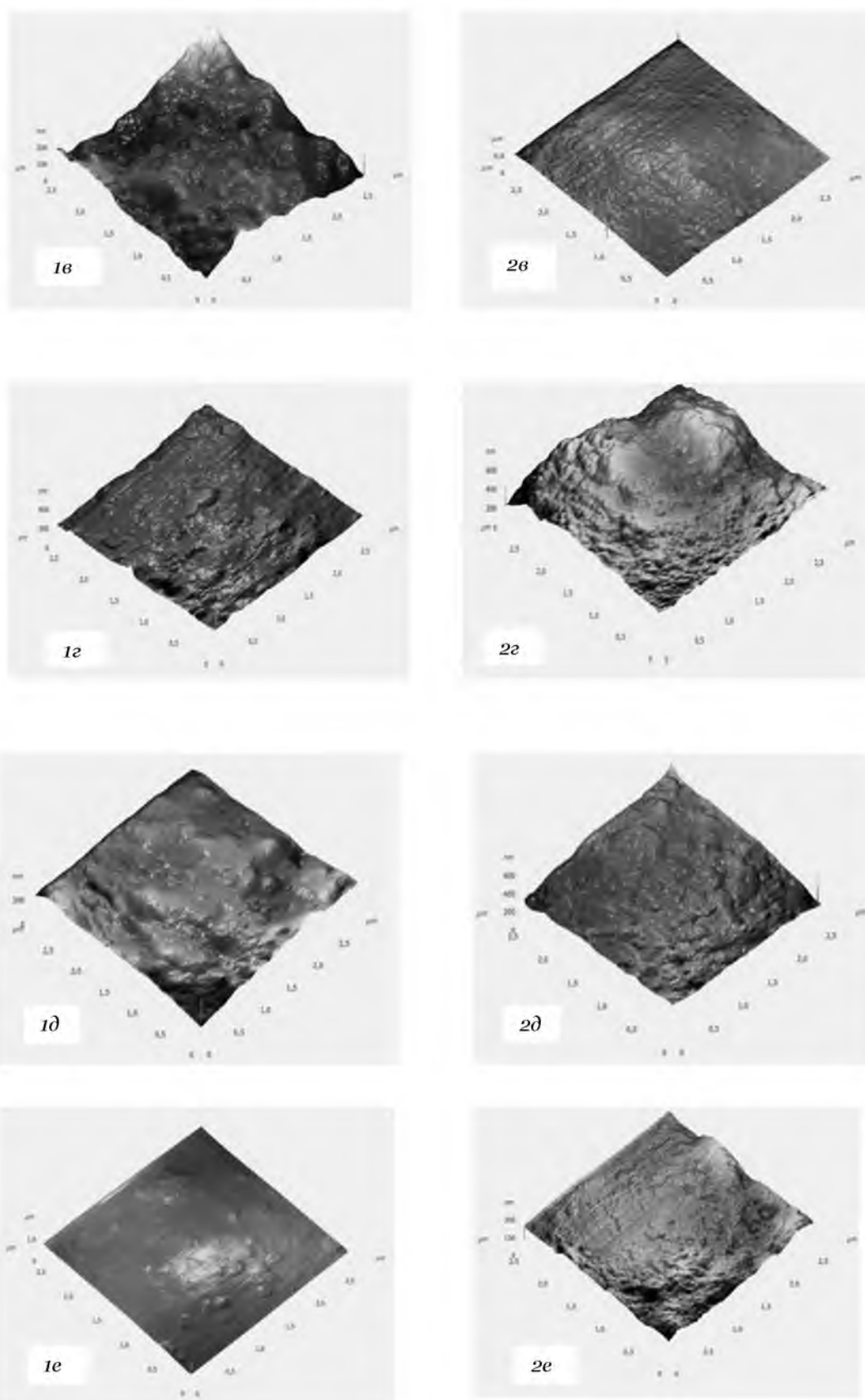


Рис. 2. Рельеф поверхности лимфоцитов больных ХЛЛ в гипо- (1) и изотоническом (2) растворах на: а – 90, б – 120, в – 150, г – 180 секундах инкубации

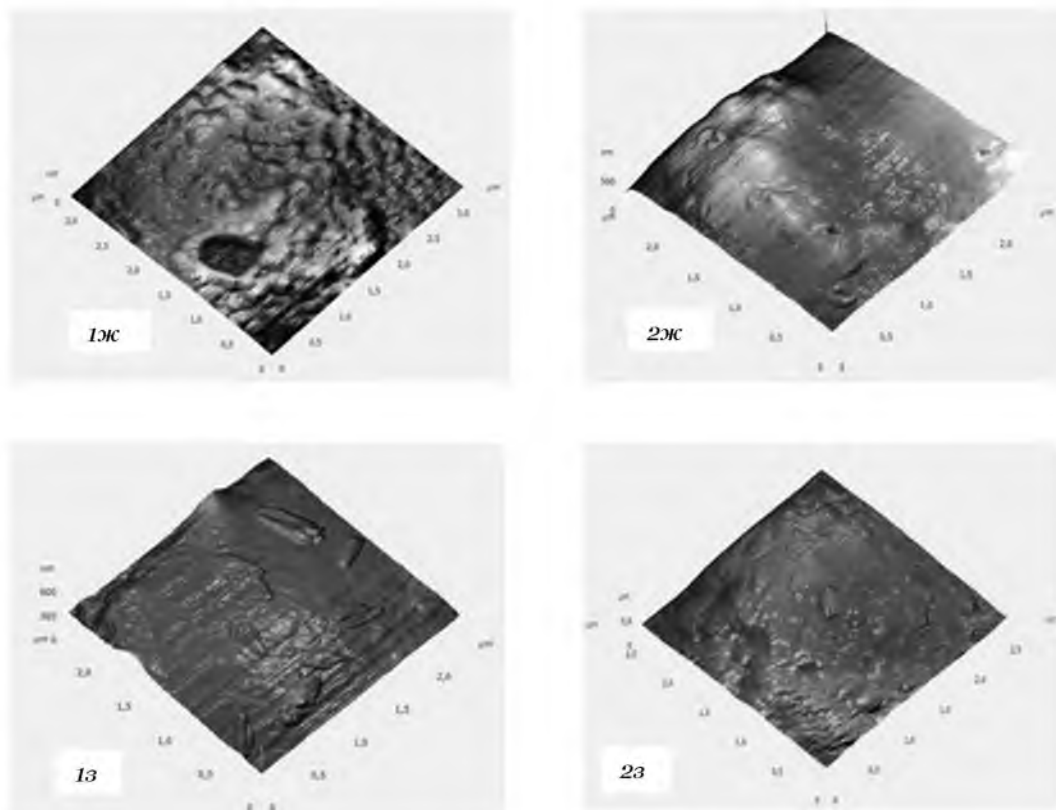


Рис. 2. Рельеф поверхности лимфоцитов больных ХЛЛ в гипо- (1) и изотоническом (2) растворах на: Ж – 300, З – 900 секундах инкубации

В течение первых 60 с экспозиции лимфоцитов больных ХЛЛ в гипотонической среде наблюдали качественные изменения в структурных перестройках поверхности. На 30 с инкубации высота глобулярных выступов возрастала на 96,7% ( $p < 0,05$ ), 60 с - на 57,5% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с высотой выступов в изотоническом растворе. При этом достоверных количественных изменений между структурами в гипо- и изотонической среде не выявлено (табл.3).

Таблица 3  
Размеры и количество глобулярных выступов на поверхности лимфоцитов больных ХЛЛ при снижении осмолярности среды

Время инкубации, с	Гипотонический раствор		Изотонический раствор	
	Высота, нм	Количество	Высота, нм	Количество
30	51.47±5.62*	19±1.6	26.17±1.23	15±2.4
60	31.94±5.10*	23±1.8	20.28±2.03	17±2.1
90	23.63±1.28*	109±3.8*	31.89±1.52	20±2.3
120	26.24±3.33	41±2.6*	29.98±1.60	103±4.1
150	39.69±1.14*	38±1.3*	31.21±1.54	18±2.5
180	29.38±3.39	25±2.4	30.65±2.70	27±2.6
300	26.76±1.67*	21±2.1	48.44±3.80	23±2.1
900	71.81±5.65*	50±3.8	15.50±1.14	59±1.8

\* - статистически достоверные различия между значениями в гипо- и изотоническом растворе по критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

На 90 с экспозиции происходило увеличение количества глобул на 445% ( $p < 0,05$ ), но их высота снижалась на 74% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с изотоническим раствором. На 120 с инкубации число глобулярных выступов уменьшалось на 95,3% ( $p < 0,05$ ), при этом высота их практически не отличалась от аналогичных значений в изотоническом растворе. На 150 с происходило увеличение как количества, так и высоты глобул на поверхности лимфоцитов соответственно на 111 и 27% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с изотоническим раствором. К окончанию экспозиции на 300 с высота глобулярных выступов уменьшалась на 81% ( $p < 0,05$ ), а на 900 с – увеличивалась на 363% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с изотоническим раствором.



На 30 с экспозиции в гипотонической среде в мембране лимфоцитов больных лейкозом возрастало количество углублений на 80% ( $p < 0.05$ ), их диаметр и глубина увеличивались соответственно на 34 и 117% ( $p < 0.05$ ) по сравнению с изотоническим раствором (табл. 4).

Таблица 4

**Габаритные размеры углублений в мембране и их количество на поверхности лимфоцитов больных ХЛЛ при снижении осмолярности среды**

Время инкубации, с	Гипотонический раствор			Изотонический раствор		
	Диаметр, нм	Глубина, нм	Количество	Ширина, нм	Глубина, нм	Количество
30	116.52±6.10*	16.10±2.70*	18±2.3*	86.80±5.80	7.41±0.32	10±1.8
60	85.67±9.76	8.76±0.43	9±0.7	85.00±3.21	8.66±0.44	10±1.8
90	147.83±6.70*	7.99±0.75	54±3.5*	89.30±7.93	7.83±0.11	10±1.9
120	106.41±9.12	9.18±0.98	17±1.2	93.35±7.73	6.28±0.80	17±1.3
150	125.57±7.44*	12.50±1.03*	14±1.0*	72.17±8.00	5.94±0.28	9±1.1
180	112.58±11.26*	11.37±1.33*	12±1.3*	77.02±4.73	3.87±0.37	38±2.6
300	113.00±9.08*	3.80±0.56	24±1.6*	86.00±1.20	4.14±0.65	5±0.8
900	99.63±1.43	10.30±1.07*	10±1.8*	86.21±2.97	2.54±0.27	19±2.6

\* - статистически достоверные различия между значениями в гипо- и изотоническом растворе по критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

На 90 и 300 с в гипотонической среде наблюдали возрастание числа углублений в мембране лимфоцитов соответственно на 440% и 380% ( $p < 0.05$ ) по сравнению с изотоническим раствором. Причем их диаметр возрастал на 65,5% (на 90 с) и на 31,4% ( $p < 0.05$ ; на 300 с), а глубина не отличалась от значений, характерных для изотонического раствора. На 150 с экспозиции в гипотонической среде происходило увеличение количества углублений в мембране на 55,6% ( $p < 0.05$ ), возрастали диаметр и глубина пор соответственно на 74 и 110% ( $p < 0.05$ ) по сравнению с размерами структур в изотоническом растворе. На 180 с габаритные размеры углублений продолжали расти, но их количество снижалось на 32% ( $p < 0.05$ ) по сравнению с изотоническим раствором. К окончанию экспозиции на 900 с происходило снижение числа углублений в гипотонической среде на 90% ( $p < 0.05$ ), при этом их глубина возрастала на 305,5% ( $p < 0.05$ ), а диаметр не отличался от значений установленных для структур в изотоническом растворе.

Реакция клеточной поверхности лимфоцитов как здоровых доноров, так и больных ХЛЛ на снижение осмолярности среды, проявлялась в образовании агрегированных доменов и выпячиваний в виде пузырьковых образований на мембране. Мембранная транслокация элементов поверхностного рельефа в лимфоцитах больных ХЛЛ в гипотонической среде происходила быстрее и начиналась с 90 с, в то время как у здоровых – со 150 с. Возможно, установленная разница во времени связана с нарушением в организации актинового цитоскелета опухолевых клеток. Образование агрегированных доменов на плазмалемме сопровождается концентрацией в этих местах фосфорилированных белков цитоскелета [9]. Показано, что пузырьковые образования мембраны, представляющие собой локальные разрушения между кортикальным цитоскелетом и мембраной, являются одной из форм клеточного движения [10], используемого раковыми клетками при инвазии во внеклеточный матрикс [11]. Механизм их появления связан с потерей клеткой кортикального F-актина и ERM-протеинов [12, 13, 14].

Образование пузырьковых структур на поверхности лимфоцитов здоровых доноров в изотоническом растворе (на 60 с) опережает по времени процесс образования агрегированных доменов и пузырьковых выпячиваний на мембранах лимфоцитов больных ХЛЛ (на 150 с). Не исключено, что такая реакция является следствием физиологического защитного действия актиновых сетей в здоровых клетках при колебании осмотического давления. Колебания в диапазоне 10м Осм детектируются на мембранах ионных каналов и контролируют регулирование объема [15]. Актиновая сеть может сопротивляться такому напряжению без сопровождения потока воды через мембрану, что вызывает появление глобулярных выступов и протрузий на поверхности [6].

### Заключение

Изменения в рельефе поверхности лимфоцитов при снижении осмолярности среды у здоровых доноров и больных ХЛЛ связаны с образованием локальных деформаций мембраны в виде выпячиваний и пузырьков. Реакция клеточной поверхности лимфоцитов, как у здоровых, так и больных ХЛЛ, на снижение осмолярности среды, проявляется увеличением высоты глобулярных выступов при сокращении их количества, в то время как в изотоническом растворе



изменение числа выступов не сопровождается достоверным изменением их размеров. Изменение количества и габаритных размеров углублений в мембране носят циклический характер, в лимфоцитах здоровых доноров начинается на 60 с воздействия, у больных – на 90 с.

### Список литературы

1. Sechi S.A., Wehland J. The cytoskeleton and plasma membrane connection: PtdIns (4,5)P<sub>2</sub> influences cytoskeletal protein activity at the plasma membrane // *J. of cell Science.* – 2000. Vol. 113. – P. 3685-3695.
2. Negulaev Y.A., Vedernikova E.A., Maximov A.V. Disruption of actin filaments increases the activity of sodium-conduction channels in human myeloid leukemia cells // *Molecular. Biol.* – 1996. – Vol. 7. – P. 1857-1864.
3. Saarikangas J., Zhao H., Lappalainen P. Regulation of the actin cytoskeleton-plasma membrane interplay by phospholipids // *Physiol. Rev.* – 2010. – Vol. 90. – P. 259-289.
4. Stossel T.P. Contribution of actin to the structure of cytomatrix // *J. Cell. Biol.* – 1984. – Vol. 99.- P. 155-219.
5. Stossel T.T., Janmey P.A., Zaner K.S, The cortical cytoplasmic actin gel // *Cytomechanics / Ed. J. Bererter-Hahn, O.R. Andersen, W.E. Reif.* – Berlin: Springer-Verlag, 1987. – P. 131-153.
6. Ito T., Suzuk A., Stossel T.P. Regulation of water flow by actin-binding protein-induced acting elation // *Biophys. J.* – 1992. – Vol. 61. – P. 1301-1305.
7. Sanchez D., Johnson N., Li C., Novak P., Rheinlaender J., Zhong V., Anand P. Noncontact measurements on the local mechanical properties of living cells using pressure applied via a pipette // *Biophys. J.* – 2008. – Vol. 95. – P. 3017-3027.
8. McMahon H.T., Gallop J.L. Membrane curvature and mechanisms of dynamic cell membrane remodeling // *Nature.* – 2005. – Vol. 438. – P. 590-596.
9. Фултон А. Цитоскелет. Архитектура и хореография клетки. – М.: Мир, 1987. – 117 с.
10. Charras G., Paluch E., Blebs lead the way: how to migrate without lamellopodia // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2008. – Vol. 9. – P. 730-736.
11. Sahal E., Mechanisms of cancer cell invasion // *Curr. Opin. Genet. Dev.* – 2005. – V. 15. – P. 87-96.
12. Raucher D., Stauffer T., Chen W., Shen K., Gu S., York J.B., Shetz M.P. Meyer T. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate functions as a second messenger that regulates cytoskeleton-plasma membrane adhesion // *Cell.* – 2000. – Vol. 100. – P. 221-228.
13. Sheetz M.P., Suble J.E. Dobereiner H.C. Continuous membrane cytoskeleton adhesion request continuous accommodation to lipid and cytoskeleton dynamics // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* – 2006. – Vol. 35. – P. 417-434.
14. Wang Y., Litvinov R.I., Chen X., Bach T.L. Loss of PIP5K $\gamma$ , unlike other PIP5K isoforms, impairs the integrity of the membrane cytoskeleton in murine megakaryocytes // *J. Clin. Invest.* – 2008. – Vol. 118. – P. 812-819.
15. Hoffman E.K., Simonsen L.D. Membrane mechanism in volume and pH regulation in vertebrate cells // *Physiol. Rev.* – 1989. – Vol. 69. – P. 315-382.

## DYNAMIC CHANGES IN LYMPHOCYTE SURFACE RELIEF WITH A DECREASE OF MEDIUM OSMOLARITY

**M.Y. Skorkina**<sup>1</sup>  
**M.Z. Fedorova**<sup>1</sup>  
**E.A. Sladkova**<sup>1</sup>  
**L.A. Kosminova**<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Belgorod State National Research University, Pobedy St., 85, Belgorod, 308015, Russia  
 E-mail: skorkina@bsu.edu.ru

<sup>2</sup> Belgorod Regional Hospital St. Iosaf, Nekrasov St., 8/9, Belgorod, 308007, Russia

The structure and dynamics of the surface topography of lymphocytes from healthy donors and CLL patients with a decrease in the osmolality of the medium are studied using the method of semi-contact AFM scanning. On the surface of lymphocytes is detected the formation of aggregated domains and protrusion in the form of bubble patterns and conglomerates, which appear on the membrane of CLL lymphocytes with 60 s earlier than normal with a decrease in the osmolality of the medium, and 60 s from earlier in healthy in an isotonic solution compared with CLL patients. By reducing the osmolality of the medium the height of the globular structures increases, and their number is reduced in the groups of healthy donors and patients with CLL.

Key words: lymphocytes, chronic lymphocytic leukemia, atomic force microscopy, surface.