

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИМФОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

© *Е. А. Сладкова,<sup>1</sup> М. Ю. Скоркина*

*Белгородский государственный национальный исследовательский университет;*

*\* электронный адрес: evgenija-sladkova00@rambler.ru*

С использованием АСМ-технологий получены новые данные о структуре и свойствах клеточной поверхности лимфоцитов больных ХЛЛ, ОЛЛ и ОЛЛ-Р. Показано, что, несмотря на присутствие в кровотоке незрелых лимфоцитов у больных как ХЛЛ, так и ОЛЛ, их механические свойства и геометрические параметры различаются. Лимфоциты больных ХЛЛ характеризуются увеличенным объемом и повышенной жесткостью, в то время как для больных ОЛЛ и ОЛЛ-Р установлено снижение жесткости, что позволяет клеткам расплываться на подложке, в результате чего их объем возрастает за счет увеличения линейных размеров клеток при сниженной высоте. Установленные структурно-функциональные особенности белых клеток крови больных лейкозом могут быть использованы в качестве прогностического критерия при развитии лейкостазов.

**Ключевые слова:** лимфобластный лейкоз, модуль Юнга, поверхностный потенциал, рельеф поверхности, атомно-силовая микроскопия.

**Принятые сокращения:** АСМ — атомно-силовая микроскопия, ОЛЛ — острый лимфобластный лейкоз, ОЛЛ-Р — острый лимфобластный лейкоз в стадии ремиссии, ПП — поверхностный потенциал, ХЛЛ — хронический лимфобластный лейкоз.

Лимфобластный лейкоз представляет собой неопластическое заболевание, которое характеризуется патологическим ростом и изменением уровня дифференцированности лимфоцитов (Шиффман, 2001). Нарушения в процессе созревания белых клеток крови оказывают существенное влияние на их иммунологические свойства. Показано, что при различных вариантах иммунных патологий в первую очередь изменяются структурно-механические свойства мембран лимфоцитов, что является ранним, а иногда и единственным признаком их функциональных нарушений (Горло, 2000). Кроме того, особенности морфологии и оценка структурно-механических свойств опухолевых клеток представляет интерес с точки зрения прогноза течения заболевания (Токарева, 2004), особенно при диагностике полных и неполных ремиссий, поскольку хромосомные аномалии лимфоцитов, являющиеся маркером лейкозогенеза, выявляются и при полном выздоровлении (Шиффман, 2001).

Решение данной проблемы стало возможным благодаря внедрению в биологические исследования методов АСМ-сканирования, которые позволяют изучать нативные цитологические структуры и механизмы их функционирования путем оценки физических свойств поверхности (Кузнецова и др., 2005). К настоящему моменту методом АСМ исследованы упругоэластические свойства клеток миелоидной (HL60) и лимфоидной (Jurkat) опухолевых линий (Rosenbluth et al., 2006), а также топография поверхности Т-лимфоцитов на разных этапах активации (Yangzhe et al., 2009). Однако данные относительно структурно-механических особенностей клеточной по-

верхности и электрических свойств лимфоцитов больных ОЛЛ, ХЛЛ и ОЛЛ-Р отсутствуют.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении структурно-функциональных особенностей лимфоцитов больных лимфобластным лейкозом.

### Материал и методика

Объект исследования — лимфоциты больных ОЛЛ, ХЛЛ и ОЛЛ-Р (по 10 пациентов в каждой группе). Контролем служили клетки 30 здоровых доноров. Экспериментальную работу выполняли на базе кафедры анатомии и физиологии живых организмов НИУ «БелГУ».

Подготовку образцов для микроскопирования осуществляли по следующей схеме. Кровь центрифугировали 10 мин при 1500 об/мин, собирали нижнюю часть плазмы, богатую лейкоцитами, и лейкоцитарное кольцо. Примесь эритроцитов разрушали 0.83%-ным раствором хлорида аммония. Лейкоциты дважды отмывали изотоническим буферным раствором (раствор Дульбекко, рН 7.4). Суспензию клеток крови помещали на обезжиренные стеклянные подложки (MiniMed, Россия).

АСМ-анализ лимфоцитов выполняли на атомно-силовом микроскопе ИНТЕГРА Вита (конфигурация на базе инвертированного оптического микроскопа Olympus IX-71) (NT-MDT, Россия). Сканирование 15 клеток из каждой пробы осуществляли в полуконтактном режиме, используя кантилеверы серии NSG 03 (Федорова и др., 2009).

В проведенном исследовании при обработке полученных сканов использовали следующие программные продукты: для расчета высоты ( $h$ , мкм) и диаметра ( $d$ , мкм) клеток — Nova (NT-MDT, Россия), для расчета площади ( $S$ , мкм<sup>2</sup>) и объема ( $V$ , мкм<sup>3</sup>) клеток — Gwyddion (Gwyddion.net). Алгоритм работы программ состоит в том, что полученный скан разбивается на множество отдельных участков и происходит обработка каждой части полученного изображения с учетом морфологических образований поверхности клеток. После этого полученные результаты суммируются, и программа выдает окончательный результат. Таким образом, данные, полученные нами с использованием программных продуктов, существенно различаются с данными, которые можно получить при использовании стандартных формул для геометрических объектов.

Для оценки структурных неоднородностей клеточной поверхности строили кривые профиля бокового сечения, на которых подсчитывали количество и измеря-



Рис. 1. Профиль бокового сечения лимфоцита.

По оси абсцисс — длина профиля сечения, мкм; по оси ординат — высота профиля сечения, нм (отрезок AA является внутренним графическим инструментом программы Nova для измерения длины и ширины участков скана).

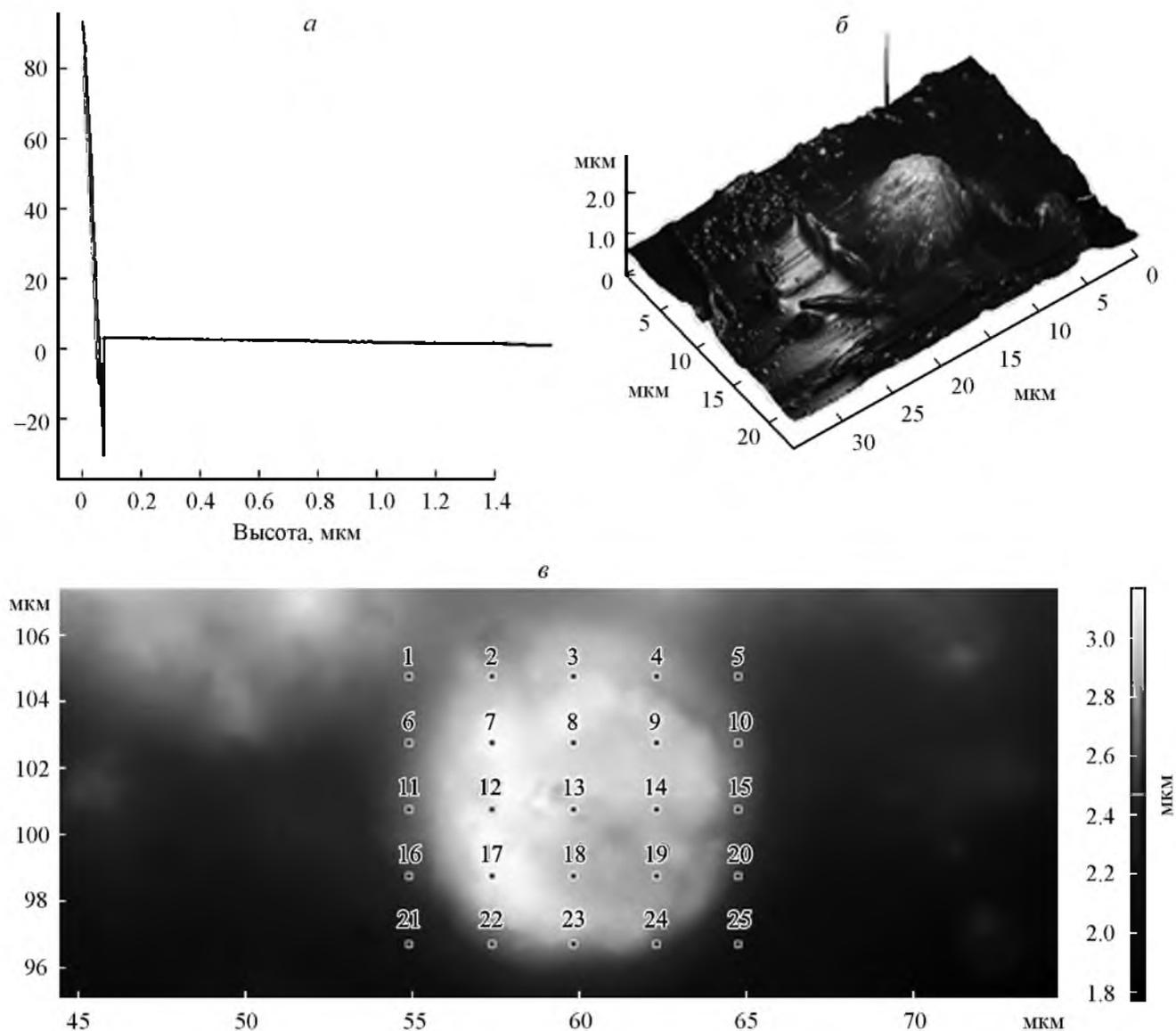


Рис. 2. Результаты силовой спектроскопии лимфоцита.

$a$  — полученные силовые кривые; по оси абсцисс — высота подвода (отвода) зонда, мкм; по оси ординат — уровень сигнала DGL (отношение величины отраженного сигнала лазера между верхней и нижней частями фотодетектора оптической системы сканирующей головки АСМ).  $b$  — трехмерное изображение лимфоцита.  $в$  — изображение лимфоцита и локальных точек (цифры) силового воздействия на его поверхность.

Таблица 1

**Геометрические параметры, величины модуля Юнга и ПП лимфоцитов при лейкозах**

Параметр	Здоровые доноры	ОЛЛ	ХЛЛ	ОЛЛ-Р
Площадь, мкм <sup>2</sup>	78.5 ± 1.2	134.0 ± 2.4 <sup>а</sup>	122.8 ± 2.5 <sup>а, б</sup>	82.4 ± 0.2 <sup>а, б</sup>
Объем, мкм <sup>3</sup>	42.6 ± 0.9	86.0 ± 1.1 <sup>а</sup>	73.6 ± 0.5 <sup>а, б</sup>	55.2 ± 0.7 <sup>а, б</sup>
Диаметр, мкм	6.3 ± 0.5	10.6 ± 0.2 <sup>а</sup>	9.4 ± 0.8 <sup>а</sup>	8.3 ± 0.7 <sup>а</sup>
Высота, мкм	0.9 ± 0.1	0.5 ± 0.02 <sup>а</sup>	1.7 ± 0.1 <sup>а</sup>	0.8 ± 0.1
Модуль Юнга, мкПа	5.2 ± 0.3	2.5 ± 0.1 <sup>а</sup>	11.2 ± 0.5 <sup>а</sup>	1.8 ± 0.2 <sup>а</sup>
ПП, мВ	-31.0 ± 0.7	-22.1 ± 0.9 <sup>а, в</sup>	-23.8 ± 0.2 <sup>а, в</sup>	-29.0 ± 0.5

Примечание. Различия достоверны при  $P < 0.05$  при сравнении с лимфоцитами здоровых доноров (<sup>а</sup>), с лимфоцитами больных ОЛЛ (<sup>б</sup>) и с лимфоцитами больных ОЛЛ-Р (<sup>в</sup>).

ли линейные размеры углублений и глобулярных выступов на участке плазмалеммы площадью 3×3 мкм (рис. 1).

Упругоэластические свойства лимфоцитов изучали в режиме силовой спектроскопии с использованием модифицированного зонда, изготовленного на основе полимерных микросфер, прикрепленных к типлессу серии CSG 11 (Скоркина и др., 2011). Регистрация модуля Юнга с помощью модифицированного сенсора позволяет воздействовать на всю поверхность лимфоцита одновременно с одинаковой силой, в результате чего представляется возможным получать «суммарную» силовую кривую с каждой клетки как с гомогенного материала (Dimitriadis et al., 2002).

Для изучения механических свойств локальных участков поверхности лимфоцитов оценивали модуль Юнга, характеризующий жесткость исследуемого объекта (Butt, Capella, 2005). Модуль Юнга измеряли в режиме силовой спектроскопии с использованием стандартного зондового датчика серии NSG 03 при наложении нагрузки на точечную поверхность в 25 точках (рис. 2, в). Полученные силовые кривые обрабатывали на основе модели Герца в модификации Снедона (Wojcikiewicz et al., 2004).

Для исследования электрических свойств лимфоцитов измеряли их поверхностный потенциал в режиме Зонда Кельвина с использованием кантилевера с токопроводящим титановым покрытием серии NSG03/TiN.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью *t*-критерия Стьюдента. Результаты в таблицах представлены в виде среднего и его стандартного отклонения.

## Результаты

Морфологические особенности лимфоцитов при лейкозах. В периферической крови больных ОЛЛ обнаружены бластные формы клеток с неправильными контурами цитоплазмы, ядром, занимающим большую часть клетки. Величина площади поверхности, объема и диаметра лимфоцитов больных ОЛЛ возрастала на 41, 51 и 41 % соответственно ( $P < 0.05$ ), при этом их высота снижалась на 45 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению с дифференцированными лимфоцитами здоровых доноров (табл. 1). Поверхность клеток больных ОЛЛ характеризовалась увеличением величины глубины и ширины инвагинаций мембраны на 54 и 39 % соответственно ( $P < 0.05$ ) при уменьшении их количества на 47 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению с лимфоцитами здоровых доноров. Высота и ширина глобулярных выступов плазмалеммы снизились на 85 и 78 % соответственно ( $P < 0.05$ ), при этом их количество уменьшилось на 57 % ( $P < 0.05$ ) (табл. 2).

В крови больных ХЛЛ присутствовали лимфоциты округлой и неправильной формы. Величина площади поверхности, объема, диаметра и высоты лимфоцитов увеличилась на 36, 42, 33 и 47 % соответственно ( $P < 0.05$ ) по сравнению со здоровыми донорами (табл. 1). Глубина и ширина инвагинаций плазмалеммы клеток больных ХЛЛ возросли на 85 и 50 % соответственно ( $P < 0.05$ ), при этом общее количество инвагинаций уменьшилось на 67 % ( $P < 0.05$ ). Высота и ширина глобулярных выступов плазмалеммы лимфоцитов больных ХЛЛ уменьшались на 9 и 80 % соответственно ( $P < 0.05$ ), а их количество сни-

Таблица 2

**Морфология поверхности лимфоцитов**

Группа	Глобулярные выступы			Углубления		
	количество	высота, нм	ширина, нм	количество	глубина, нм	ширина, нм
Здоровые доноры	7.0 ± 0.2	46.0 ± 2.5	15.0 ± 0.9	9.0 ± 0.4	26.0 ± 1.8	2.0 ± 0.3
ОЛЛ	3.0 ± 0.1 <sup>а</sup>	7.0 ± 0.5 <sup>а</sup>	3.3 ± 0.8 <sup>а</sup>	5.0 ± 0.5 <sup>а</sup>	56.6 ± 3.2 <sup>а</sup>	3.4 ± 0.2 <sup>а</sup>
ХЛЛ	4.0 ± 0.2 <sup>а</sup>	42.0 ± 1.2 <sup>а, б</sup>	3.0 ± 0.2 <sup>а</sup>	3.0 ± 0.1 <sup>а</sup>	174.4 ± 5.1 <sup>а, б</sup>	4.0 ± 0.9 <sup>а</sup>
ОЛЛ-Р	5.0 ± 0.3 <sup>а</sup>	41.0 ± 1.4 <sup>а, б</sup>	2.0 ± 0.1 <sup>а</sup>	7.0 ± 0.3 <sup>а</sup>	32.0 ± 3.4 <sup>а, б</sup>	10.0 ± 0.8 <sup>а</sup>

Примечание. Различия достоверны при  $P < 0.05$  при сравнении с лимфоцитами здоровых доноров (<sup>а</sup>) и с лимфоцитами больных ОЛЛ (<sup>б</sup>).

Таблица 3

Распределение модуля Юнга лимфоцитов по точкам наноидентификации, мкПа				
Точка	Здоровые доноры	ОЛЛ	ХЛЛ	ОЛЛ-Р
4	6.0 ± 0.3	3.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	13.1 ± 0.4 <sup>a</sup>	0.8 ± 0.2 <sup>a</sup>
7	7.5 ± 0.8	2.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	12.1 ± 0.9 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>a</sup>
13	6.4 ± 0.8	2.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	12.3 ± 0.7 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.01 <sup>a</sup>
14	5.6 ± 0.6	2.1 ± 0.1 <sup>a, 6</sup>	13.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.01 <sup>a, 6</sup>
18	7.5 ± 0.7	2.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	11.1 ± 0.7 <sup>a</sup>	0.50 ± 0.03 <sup>a</sup>
23	6.0 ± 0.9	2.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	11.9 ± 0.6 <sup>a</sup>	0.90 ± 0.02 <sup>a</sup>
24	5.6 ± 0.2	1.9 ± 0.4 <sup>a</sup>	8.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.00 ± 0.01 <sup>a</sup>

Примечание. Различия достоверны при  $P < 0.05$  при сравнении с лимфоцитами здоровых доноров (<sup>a</sup>) и с лимфоцитами больных ХЛЛ (<sup>6</sup>).

зилось на 43 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению со здоровыми донорами (табл. 2).

Лимфоциты больных ОЛЛ-Р имели правильную округлую форму. Величина площади поверхности, объема и диаметра лимфоцитов у больных ОЛЛ-Р возросла на 5, 23 и 11 % соответственно ( $P < 0.05$ ) по сравнению с контролем, а высота снизилась на 22 % ( $P < 0.05$ ). На поверхности клеток больных ОЛЛ-Р наблюдалось увеличение величины глубины и ширины инвагинаций мембраны соответственно на 19 и 80 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Высота и ширина глобулярных выступов клеточной поверхности снизились соответственно на 11 и 33 % ( $P < 0.05$ ). Количество выступов на мембране лимфоцитов больных ОЛЛ-Р уменьшилось на 29 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению со здоровыми донорами.

В крови больных ОЛЛ циркулировали лимфоциты больших размеров и с более сглаженным рельефом плазмалеммы по сравнению с клетками больных ХЛЛ и ОЛЛ-Р. Величина площади поверхности и объема клеток больных ОЛЛ увеличилась на 8 и 14 % соответственно ( $P < 0.05$ ) по сравнению с лимфоцитами больных ХЛЛ и на 39 и 36 % соответственно ( $P < 0.05$ ) по сравнению с лимфоцитами больных ОЛЛ-Р. Высота глобулярных выступов снизилась на 84 и 82 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению с лимфоцитами больных ХЛЛ и ОЛЛ-Р соответственно. Глубина инвагинаций клеточной поверхности у больных ОЛЛ уменьшились на 68 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению с лимфоцитами больных ХЛЛ и на 44 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению с клетками больных ОЛЛ-Р (табл. 2).

Функциональные особенности лимфоцитов при лейкозах. В группах больных ОЛЛ и ОЛЛ-Р было установлено снижение величины модуля упругости на 52 и 64 % соответственно ( $P < 0.05$ ), а в группе больных ХЛЛ — увеличение на 54 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению с контролем (табл. 1).

У больных ОЛЛ и ОЛЛ-Р показано уменьшение величины упругости по краю цитоплазмы лимфоцитов (рис. 2, в, точки 4, 23) в среднем на 48 и 87 % соответственно ( $P < 0.05$ ), в области ядра (рис. 2, в, точки 13, 14) — на 55 и 95 % соответственно ( $P < 0.05$ ) по сравнению с клетками здоровых доноров (табл. 3). Модуль упругости лимфоцитов больных ХЛЛ возрастал по периферии клетки и в перинуклеарной зоне (рис. 2, в, точки 4, 7, 24) в среднем на 54 и 32 % соответственно ( $P < 0.05$ ) в сравнении с контрольной группой (табл. 3).

Для лимфоцитов больных ОЛЛ и ХЛЛ характерна неравномерная жесткость клеточной поверхности. Разброс значений модуля Юнга у больных ОЛЛ составляет от  $1.9 \pm 0.6$  до  $3.1 \pm 0.3$  мкПа, у больных ХЛЛ — от  $8.1 \pm 1.2$  до  $13.1 \pm 1.5$  мкПа. Наиболее жесткие участки поверхности выявлены в области ядра больных ХЛЛ (рис. 2, в, точка 14), что на 76 и 98 % ( $P < 0.05$ ) выше модуля Юнга лимфоцитов больных ОЛЛ и ОЛЛ-Р соответственно (табл. 3).

ПП лимфоцитов больных ОЛЛ и ХЛЛ был повышен соответственно на 29 и 23 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению с клетками здоровых доноров. Для лимфоцитов больных ОЛЛ-Р было характерно снижение ПП на 24 и 18 % ( $P < 0.05$ ) по сравнению с ОЛЛ и ХЛЛ соответственно (табл. 1).

## Обсуждение

Методом полуконтактного АСМ-сканирования получены данные о высоте и геометрической форме лимфоцитов больных лейкозом. Для лимфоцитов больных ХЛЛ характерно увеличение объема и площади поверхности за счет возрастания высоты клеток. Однако для лимфоцитов больных ОЛЛ и ОЛЛ-Р характерно увеличение площади поверхности и объема на фоне снижения средней высоты клеток, что указывает на изменение их морфологии за счет распластывания на подложке. Поступление в периферическое русло лимфоцитов неправильной формы может быть связано с особенностями организации в системе микротрубочек. Так, в округлых клетках микротрубочки собираются в крупные пучки, в то время как в лимфоцитах с неправильной формой тубулиновые фибриллы располагаются в виде отдельных нитей, способствуя вытягиванию краевых участков цитоплазмы (Felix, Sträuli, 1990).

Топография поверхности лимфоцитов больных ХЛЛ имела ярко выраженный рифленый характер по сравнению с лимфоцитами здоровых доноров. Поверхность лимфоцитов больных ОЛЛ и ОЛЛ-Р теряет часть морфологических образований, в результате чего увеличиваются размеры инвагинаций, уменьшается высота глобулярных выступов на фоне снижения их общего количества, что, вероятно, является следствием перестроек активных структур цитоскелета (Yamazaki et al., 2005). Сглаживание рельефа поверхности сопровождается снижением жесткости лимфоцитов больных ОЛЛ и ОЛЛ-Р с преобладанием наименьших ее значений по периферии

цитоплазмы, что может создавать условия для формирования ламеллоподий (Small, 1998) и фокальных контактов (Morrison, 2007). Для лимфоцитов больных ХЛЛ характерно увеличение жесткости с максимальным ее значением в области ядра, что, по данным литературы, может быть связано с уменьшением количества актиновых нитей (Cai et al., 2010) и наличием структурных аномалий промежуточных филаментов (Zucker et al., 1979).

Увеличение ПП лимфоцитов больных ОЛЛ и ХЛЛ повышает адгезию клеток к сосудистой стенке (Мецлер, 1980) и создает условия для нарушения микроциркуляции (Dong, 1998). Ключевую роль в повышении поверхностного потенциала лимфоцитов при лимфопролиферативных заболеваниях может играть как перераспределение молекул холестерина клеточной мембраны (Mooges et al., 2010), так и снижение скорости трансформации глобулярного актина в полимерную форму, в результате активируются ионные каналы (Negulyaev et al., 1996), участвующие в формировании электрического заряда клетки.

Таким образом, использование АСМ-инструментария позволило установить изменения ультраструктуры и механических свойств клеточной поверхности лимфоцитов больных лейкозом, которые могут быть использованы в качестве индикаторов степени выраженности патологических процессов при лейкоэмических микроангиопатиях, сопровождающихся увеличением калибра венул и снижением артериоло-венулярного коэффициента (Моллаева, 2003). Несмотря на схожий рисунок рельефа плазмалеммы лимфоцитов больных ОЛЛ, ХЛЛ и ОЛЛ-Р, изменения морфологии носят разнонаправленный характер и, скорее всего, зависят от жесткости клеток. Увеличение объема лимфоцитов больных ХЛЛ сопровождается снижением упругоэластических свойств клеток, в то время как у больных ОЛЛ и ОЛЛ-Р объем лимфоцитов возрастает на фоне снижения жесткости клеток, что позволяет им участвовать в реакциях распластывания на подложке. Выявленные структурно-функциональные особенности лимфоцитов больных лейкозом имеют особое значение в прогнозе патологических изменений, возникающих в микроциркуляторном русле при развитии лейкостазов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 гг. (соглашение № 14.132.21.1320).

#### Список литературы

Горло Е. И. 2000. Структурно-функциональное состояние мембран клеток крови и лимфы у онкологических больных при различных химиотерапевтических воздействиях: Автореф. канд. дис. Ростов-на-Дону. 24 с.

Кузнецова Т. Г., Федорович С. В., Васим Т. В. 2005. Исследование структурно-функциональных свойств клеточных мембран методом атомно-силовой микроскопии. Мед. журн. 3 : 1—5.

Мецлер Д. Э. 1980. Биохимия: химические реакция в живой клетке. М.: Мир. 583 с.

Моллаева Н. Р. 2003. Состояние микроциркуляции и реологии крови у больных при некоторых формах анемий и лейкозах: Автореф. канд. дис. Махачкала. 19 с.

Скоркина М. Ю., Федорова М. З., Сладкова Е. А., Забиняков Н. А. 2011. Способ определения упругости клеток крови. Заявка на патент РФ. Заявитель ГОУ ВПО БелГУ. Регистр. № 2011109741, дата приоритета 15.03.2011.

Токарева Н. В. 2004. Изменение структуры плазматических мембран лимфоцитов и эритроцитов при персистентных вирусных инфекциях. Автореф. канд. дис. Томск. 25 с.

Федорова М. З., Чернявских С. Д., Скоркина М. Ю., Забиняков Н. А., Сладкова Е. А. 2009. Способ исследования нативных клеток. Патент РФ 2398234 G01N33/49. Заявитель и патентообл. ГОУ ВПО БелГУ. Заявка № 2009125268/15 от 01.07.2009.

Шиффман Ф. Дж. 2001. Патолофизиология крови. М.: Бином. 448 с.

Butt H. E., Capella B. 2005. Force measurements with the atomic force microscopy: technique, interpretation and application. Surf. Sci. Rep. 59 : 148—152.

Cai X., Xing X., Cai J., Chen Q., Wu S., Hung F. 2010. Connection between biomechanics and cytoskeleton structure of lymphocyte and Jurkat cells: an AFM study. Micron. 41 : 257—262.

Dimitriadis E. K., Horkay F., Maresca J. 2002. Determination of elastic moduli of thin layers of soft material using the atomic force microscope. Biophys. J. 82 : 2798—2810.

Dong C. 1998. Mechanics of leukocyte deformation and adhesion to endothelium in shear flow. Ann. Biomed. Eng. 27 : 298—312.

Felix H., Strauli P. 1990. Intermediate-sized filaments in leukemia cells. J. Clin. Lab. Immunol. 32 : 33—36.

Moore B., Hane F., Eng L., Leonenko Z. 2010. Kelvin probe force microscopy in application to biomolecular films: Frequency modulation, amplitude modulation, and lift mode. Ultramicroscopy. 110 : 708—711.

Morrison E. E. 2007. Action and interactions at microtubule ends. Cell. Mol. Life Sci. 64 : 307—317.

Negulyaev Y., Vedernikova E., Maximov A. 1996. Disruption of actin filaments increases the activity of sodium-conducting channels in human myeloid leukemia cells. Mol. Biol. Cell. 7 : 1857—1864.

Rosenbluth M., Lam W., Fletcher A. 2006. Force microscopy of nonadherent cells: a comparison of leukemia cell deformability. Biophys. J. 90 : 2994—3003.

Small J. V. 1998. The actin cytoskeleton. Electron Microsc. Rev. 1 : 155—174.

Wojcikiewicz E., Zhang X., Moy V. 2004. Force and compliance measurements on living cells using atomic force microscopy. Biol. Proced. Online. 6 : 1—9.

Yamazaki D., Kurisu S., Takenawa T. 2005. Regulation of cancer cell motility through actin reorganization. Cancer Sci. 96 : 379—386.

Yangzhe W., Hongsong L., Jiye C., Xianhui H., Hu Y., Hongxia Z., Xiaoping W. 2009. Membrane surface nanostructures and adhesion property of T lymphocytes exploited by AFM. Nanoscale Res. Lett. 4 : 942—947.

Zucker D., Levels L. F., Silver R. 1979. Differences in the behaviour of the membrane and membrane-associated filamentous structures in normal and chronic lymphocytic leukemia (CLL) lymphocytes. J. Immunol. 122 : 97.

Поступила 25 VI 2013

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PECULIARITIES OF LYMPHOCYTES FROM PATIENTS  
WITH LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

*E. A. Sladkova,<sup>1</sup> M. Yu. Skorkina*

Belgorod State National Research University;

<sup>1</sup> e-mail: evgenija-sladkova00@rambler.ru

New data on the structure and properties of the cell surface of lymphocytes from the blood of patients with CLL, ALL and ALL at remission stage has been obtained using AFM technologies. It's been shown that, despite the presence of immature lymphocytes in the blood flow of patients with CLL and ALL, the mechanical properties and geometrical parameters of the cells are different. Lymphocytes of CLL patients had an increased volume and higher stiffness, while the cells from the blood of patients with ALL and ALL in remission had decreased stiffness, which allowed the cells to spread on the substrate, thereby the volumes increased due to their reduced height and increased diameter. Identified structural and functional peculiarities of white blood cells from the patients with leukemia can be used for prognosis of the cancer progression.

**Key words:** lymphoblastic leukemia, Young's modulus, surface charge, shape of the surface, atomic force microscopy.