

# ЭРИПТОЗ (КВАЗИАПОПТОЗ) ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА И ЕГО РОЛЬ В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ

УДК 577.352: 615.1/4

<https://doi.org/10.7816/RCF1735-38>

© **В.И. Ващенко, В.Н. Вильянинов**

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург

Для цитирования: Ващенко В.И., Вильянинов В.Н. Эриптоз (квазиаптоз) эритроцитов человека и его роль в лекарственной терапии // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2019. – Т. 17. – № 3. – С. 5–38. <https://doi.org/10.7816/RCF1735-38>

Поступила: 03.07.2019

Одобрена: 15.08.2019

Принята: 19.09.2019

В ходе кровообращения эритроциты могут повреждаться, что ставит под угрозу их целостность и вызывает программированную смерть эритроцита, или эриптоз. Этот механизм характеризуется сморщиванием клетки, везикуляцией клеточной мембраны и перемещением фосфатидилсерина из внутреннего слоя клеточной мембраны на поверхность клетки, макрофаги идентифицируют его, захватывают эритроцит и разлагают как эриптозную клетку. Термин «эриптоз» также включает типичные механизмы, способствующие запуску этого процесса, включая окислительный стресс, увеличение концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$  и активацию p38 киназы, которая является киназой, экспрессируемой в эритроцитах человека и активированной после осмотического шока. Увеличенный эриптоз наблюдается при различных патологиях: сахарном диабете, почечной недостаточности, гемолитическом уремическом синдроме, сепсисе, микоплазменной инфекции, малярии, железодефицитной анемии,  $\beta$ -талассемии, дефиците глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФД), наследственном сфероцитозе, пароксизмальной ночной гемоглобинурии, болезни Вилсона, миелодиспластическом синдроме и фосфорнокислом истощении. Поэтому эриптоз является важным механизмом удаления

дефектных эритроцитов и предотвращает внутрисосудистый гемолиз. Кроме того, удаление зараженных патогенами эритроцитов при болезнях, например при малярии, может противодействовать паразитемии. Полагают, что управление инфицированностью плазмодия при помощи индукции эриптоза не повышает устойчивость патогена, поскольку белки, включаемые в программируемую смерть клетки-хозяина, не закодированы патогеном и, таким образом, не могут быть изменены мутациями генов плазмодия. В работах последних лет установлено, что усиленный эриптоз может поставить под угрозу капиллярное кровообращение и привести к анемии. Показано, что адгезия эриптозных эритроцитов к внутренней поверхности сосудов может привести к нарушению микроциркуляции клеток крови. Таким образом, современные представления об эриптозе расширяют наши познания о программированной гибели клеток крови и позволяют более направленно создавать новые терапевтические схемы лечения пациентов.

◆ **Ключевые слова:** эритроцит; эриптоз; механизм эриптоза; фосфатидилсерин; везикуляция мембраны; окислительный стресс; гиперосмотический шок.

## ERYPTOSIS (QUASI-APOPTOSIS) THE HUMAN RED BLOOD CELLS. ITS ROLE IN MEDICINAL THERAPY

© *V.I. Vaschenko, V.N. Vil'yaninov*

S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

For citation: Vaschenko VI, Vil'yaninov VN. Eryptosis (quasi-apoptosis) the human red blood cells. Its role in medicinal therapy. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2019;17(3):5-38. <https://doi.org/10.17816/RCF1735-38>

Received: 03.07.2019

Revised: 15.08.2019

Accepted: 19.09.2019

In the course of circulation erythrocytes can test damages, which compromises their integrity and thus triggers suicidal erythrocyte death or eryptosis. This mechanism is characterised by cell shrinkage, cell membrane blebbing, and cell membrane phospholipid scrambling after phosphatidylserine exposure on the cell surface that is identified by macrophages, which engulf and degrade the eryptotic cells. The term eryptosis also includes typical mechanisms, which contribute to the triggering of this process, such as oxidative stress,  $Ca^{2+}$  entry with an increase in cytosolic  $Ca^{2+}$  activity and the activation of p38 kinase, which is a kinase expressed in hu-

man erythrocytes and activated after hyperosmotic shock. Enhanced eryptosis has been observed in several clinical conditions such as diabetes, renal insufficiency, haemolytic uremic syndrome, sepsis, mycoplasma infection, malaria, iron deficiency, sickle cell anaemia, beta-thalassemia, glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)-deficiency, hereditary spherocytosis, paroxysmal nocturnal haemoglobinuria, Wilson's disease, myelodysplastic syndrome, and phosphate depletion. Therefore, eryptosis may be considered as a useful mechanism of removal of defective erythrocytes to prevent haemolysis. Moreover, the clearance of infected erythrocytes

in diseases such as malaria may counteract parasitemia. Indeed it is known that sickle-cell trait, beta-thalassemia trait, G6PD-deficiency and iron deficiency confer some protection against a severe course of malaria. Importantly, strategies to control *Plasmodium* infection by inducing eryptosis are not expected to generate resistance of the pathogen, as the proteins involved in suicidal death of the host cell are not encoded by the pathogen and thus cannot be modified by mutations of its genes. However, excessive eryptosis could compromise microcirculation and lead to anemia.

## ВВЕДЕНИЕ

Одним из интенсивно изучаемых физиологических процессов в современной биологии и медицине является апоптоз, процесс, который в широком смысле понимают как запрограммированную гибель ядросодержащих клеток. Прежде всего апоптоз характеризуется переносом фосфатидилсерина из внутреннего монослоя цитоплазматической мембраны в наружный монослой; выходом цитохрома С из межмембранного пространства митохондрий в цитоплазму [4], образованием апоптосомы с последующей активацией каспаз (цистеиновых протеаз) и активных форм кислорода (АФК); сморщиванием цитоплазматической мембраны и уменьшением объема клетки; разрывом нитей ДНК в межнуклеосомных участках; конденсацией хроматина по периферии ядра; распадом ядра на части; фрагментацией клеток на апоптозные тельца-везикулы с внутриклеточным содержимым. В зависимости от типа клеток и вида стимула апоптоз может осуществляться по трем сигнальным путям: внутреннему митохондриальному, внешнему немитохондриальному и внешнему митохондриальному [3]. Внешние немитохондриальный и митохондриальный пути часто объединяют в единый внешний путь апоптоза. При митохондриальном апоптозе происходит пермеабилзация наружной мембраны митохондрий, которая сопровождается выбросом апоптогенных факторов (преимущественно цитохрома С) из межмембранного пространства митохондрий в цитоплазму, образованием апоптосомы с последующей активацией эффекторных каспаз, которые затем осуществляют деструкцию клетки. В случае развития апоптоза по внешнему немитохондриальному пути эффекторные каспазы активируются напрямую каспазами-инициаторами. Активация каспазы-инициаторов происходит в результате связывания внеклеточных лигандов, так называемых «лигандов смерти», с поверхностными рецепторами — «рецепторами смерти» [5].

Долгое время считалось, что развитие процесса апоптоза возможно только в ядросодержащих клетках. Однако исследования последних 20 лет, проведенные на эритроцитах человека и других млекопитающих, показали, что ряд событий, характерных

Besides, adhesion of eryptosis erythrocytes to a vascular wall also can lead to microcirculation infringement. Thus, modern representations about eryptosis expand our knowledge about the programmed death of blood cells and is more directed to create new therapeutic schemes of treatment of patients.

◆ **Keywords:** erythrocytes; eryptosis; mechanisms eryptosis; phosphatidylserine; membrane blebbing; oxidative stress; hyperosmotic shock.

для апоптоза, можно обнаружить в тромбоцитах и эритроцитах — клетках, лишенных ядра [9]. Известно, что эритроциты — один из наиболее многочисленных видов клеток организма, составляют почти 10 % всего объема клеток взрослого человека [184, 245]. Зрелые эритроциты постепенно стареют с последующим удалением старых клеток из циркуляции. Продолжительность жизни эритроцитов человека составляет от 100 до 120 дней. Старение эритроцитов — это естественный процесс, изучению которого посвящено много исследований, последние достижения в этой области отражены в ряде обзорных работ [1, 56, 179, 241].

Однако до наступления физиологического старения эритроциты могут подвергаться повреждению, которые нарушают их целостность и, таким образом, запускают их запрограммированную гибель — **эриптоз**. Термин был введен в 2005 г. для обозначения апоптоза эритроцитов [188]. Давно известно, что после завершения эритропоэза в эритроцитах отсутствуют ядра и митохондрии, весьма важные органеллы для механизма, реализующего классический апоптоз. Отметим, что, с одной стороны, в эритроцитах отсутствует и ряд других особенностей апоптоза, присущих ядросодержащим клеткам, включая деполяризацию митохондрий и конденсацию ядра. С другой стороны, при эриптозе проявляются некоторые другие важные черты апоптоза, такие как ускоренное уменьшение объема клетки, везикуляция и скрамблирование клеточной мембраны, ведущие к перемещению фосфатидилсерина из внутреннего слоя мембраны на поверхность клетки [186].

По нашему мнению, правильнее было бы называть процесс запрограммированной смерти эритроцитов «квазиапоптоз». Аналогичного мнения придерживаются и другие исследователи [130]. Поскольку при эриптозе эритроциты проявляют только часть признаков апоптоза, связанных прежде всего с клеточной мембраной, такой квазиапоптоз можно охарактеризовать, по мнению М.Н. Стародубцевой [12], как мембраносвязанный апоптоз (табл. 1).

В обзорной статье обсуждаются современные представления о молекулярных механизмах эриптоза (мембраносвязанного апоптоза) в эритроцитах человека в норме и при патологии.

■ Таблица 1. Признаки функциональных различий видов гибели клеток

Признак	Апоптоз	Некроз	Эриптоз (мембраносвязанный апоптоз)
Функциональная значимость	Необратимое прекращение жизнедеятельности клетки, завершающееся ее поглощением макрофагами или соседними клетками без воспалительной реакции. Наблюдается в индивидуальных клетках в от на физиологические стимулы (факторы роста, гормоны и др.)	Необратимое прекращение жизнедеятельности клетки. Омертвление и гибель клеток и тканей в живом организме	Необратимое прекращение жизнедеятельности эритроцитов, завершающееся их поглощением макрофагами без воспалительной реакции. Наблюдается в индивидуальных эритроцитах при окислительном стрессе, осмотическом шоке, энергетическом истощении и воздействии повышенных концентраций $Ca^{2+}$
Распространенность	Одиночная клетка	Группа клеток, ткань	Одиночная клетка
Индукция	Активируется физиологическими или патологическими стимулами	Различная в зависимости от повреждающего фактора	Различная в зависимости от повреждающего фактора
Генный контроль	Да	Нет	Нет
Морфологические параметры	Потеря микроворсинок и межклеточных контактов. Агрегация хроматина при ядерной мембране, конденсация ядра и цитоплазмы. Уменьшение объема клетки. Вспучивание мембраны без потери ее целостности. Фрагментация клетки на везикулы из плазматической мембраны, фрагменты клетки и апоптозные тельца. Образование пор в мембране митохондрий	Нет аналога Нет аналога Набухание и лизис клеток	Нет аналога Нет аналога Уменьшение объема клетки. Кренирование клеток, везикулизация мембраны
Целостность клеточной мембраны	Появление фосфатидилхолина на внешней поверхности плазматической мембраны	Нарушена. Диффузная локализация в некротизированной клетке	Изменение в асимметрии мембран (появление фосфатидилсерина на внешней поверхности плазматической мембраны)
Биохимические изменения	Строго регулируемый энергозависимый процесс. Моно- и олигонуклеосомная фрагментация ДНК до лизиса клетки. Выделение различных регулирующих факторов (AIR, цитохром C) митохондриями в цитоплазму клетки.	Энергозависимый процесс Нарушение или прекращение ионного обмена. Из лизосом высвобождаются ферменты. Нет аналога	Энергозависимый процесс. Нет аналога. Нарушение ионного обмена. Активация некоторых каспаз. В основном капазознезависимый механизм
Структурные изменения	Изменения в структуре цитоскелета. Появление рецепторов на поверхности клетки, аккумуляция керамидов. Активация катионных каналов		Изменения в структуре мембранного скелета. Появление рецепторов на поверхности клетки, образование керамидов. Активация катионных каналов
Удаление погибших клеток	Поглощение (фагоцитоз) соседними клетками	Поглощение (фагоцитоз) нейтрофилами и макрофагами	Поглощение (фагоцитоз) нейтрофилами и макрофагами
Воспалительный процесс	Нет	Обычно есть	Нет

### Структурные и биофизические характеристики эритроцитов

При физиологических условиях количество эритроцитов в циркулирующей крови приблизительно равно  $4 \cdot 10^{12}/л$ , что составляет почти половину полного объема крови. Эритроциты происходят из эриробластов, клеток-предшественников миелоидной линии стволовой клетки, и теряют ядра прежде, чем войти в стадию ретикулоцита. Эритропоэз — динамичный процесс, который жестко регулирует количество эритроцитов в кровообращении, причем примерно  $10^{11}$  эритроцитов производятся и удаляются

из кровообращения каждый день [184, 295, 310]. Морфологически нормальные эритроциты имеют двояковогнутую форму, благодаря чему обладают выраженной способностью подвергаться мембранной деформации и удлиняться, поскольку им приходится проходить через узкие капилляры [201]. Самая важная и известная функция эритроцитов — транспортировка кислорода из легких к тканям [51].

Мембранам присуща такая особенность, как вертикальная (трансмембранная) асимметрия. Это означает, что у каждой мембраны, имеющей внутреннюю и внешнюю поверхности, существует

различие по липидному и белковому спектрам. Из-за того, что липиды с более объемными полярными «головками» стремятся попасть в наружный слой вследствие большей площади поверхности, возникает липидная асимметрия [33, 202, 260].

С химической точки зрения фосфолипиды состоят из четырех частей: глицерина, двух жирных кислот с длинной углеводородной цепью, фосфорной кислоты и особой для каждого фосфолипида группы, которую называют характеристической [231].

Фосфолипиды различаются как составом жирных кислот, так и структурой характеристической группы. В фосфатидилэтаноламине такой группой является остаток этаноламина, в других фосфолипидах ею могут быть остаток холина, серина и другие полярные молекулы [6, 7, 14, 16].

В состав липидного слоя мембран входят также холестерин и сфингомиелины [17]. Последние по химическому строению и физическим свойствам близки к фосфолипидам [11]. Самые распространенные фосфоглицериды — фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, фосфатидилсерин и фосфатидилинозитол. Полярная «головка» фосфатидилсерина содержит остаток аминокислоты серина, а фосфатидилинозитола — остаток циклического спирта [13]. При значениях pH, близких к 7,0, спиртовые группы «головок» могут нести один или несколько электрических зарядов. Фосфатидилсерин активирует мембранные АТФазы, следовательно, участвует в поддержании градиента концентрации ионов по обе стороны мембраны эритроцитов, а также в регуляции энергообеспечения клетки. Второй важный класс мембранных липидов — сфинголипиды, они тоже имеют полярную «головку» и два неполярных «хвоста», только у них отсутствует глицерол [8]. Сфинголипиды построены из одного остатка жирной кислоты, одного остатка длинноцепочечного аминок спирта — сфин-

гозина (или его производного) — и одного остатка спирта полярной головы [17, 259, 305].

Распределение липидов в эритроцитарной мембране асимметрично: на ее внешней стороне концентрируются сфингомиелин (26 % от всех липидов) и фосфатидилхолин (28 %), на внутренней — фосфатидилсерин (13 %) и фосфатидилэтаноламин (27 %) [18] (рис. 1).

Асимметричное расположение липидов в мембране поддерживается за счет ряда ферментов [82]. К ним относятся Mg-АТФ-зависимая аминок-фосфолипидтранслоказа (АТФаза II типа, или флиппаза) и скрамблаза, которые отвечают за локализацию фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина во внутреннем монослое [11]. Важная функция Mg-АТФ-зависимой фосфолипидтранслоказы — перенос в процессе эритроза фосфолипидов из внутреннего монослоя во внешний. В нормальных условиях такое движение липидов протекает намного медленнее, чем осуществляемое флиппазой. Нарушение асимметрии фосфолипидов может произойти за счет активации скрамблазы, которая не активна при физиологических условиях. Активация возможна при условии высокой концентрации ионов  $Ca^{2+}$ , что приводит к перемещению фосфолипидов в обоих направлениях [18].

Процесс «флип-флопа» (то есть вертикальное перемещение липидов) сфинголипидов и фосфоглицеридов в мембране протекает с затруднением в связи с невозможностью полярных «головок» проходить через гидрофобный слой. Поэтому липиды, находящиеся на внутренней стороне мембраны, имеют относительно высокую скорость трансмембранной миграции, по сравнению с липидами наружной стороны мембраны, мигрирующими медленнее или вообще не совершающими «флип-флоп»-перескоки без участия флиппазы и скрамблазы [33].

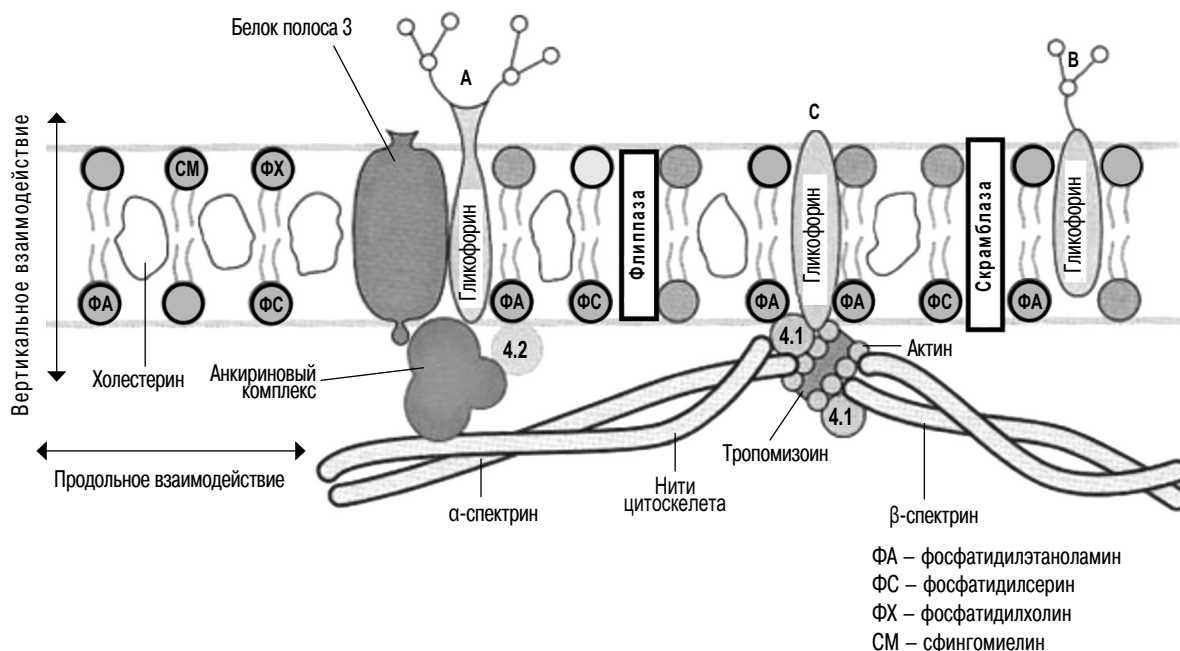


Рис. 1. Схема взаимосвязи основных элементов мембраны эритроцитов

По причине того, что молекулы фосфолипидов перемещаются с одной стороны мембраны на другую, происходит изменение свойств и функциональной активности эритроцитов [198]. Обстоятельными исследованиями установлено, что если фосфатидилсерин появляется в наружном слое мембраны, это приводит к усилению способности эритроцитов активировать функцию макрофагов по захвату старых и поврежденных клеток [145, 153, 239]. Наличие холестерина в мембране уменьшает подвижность жирных кислот, снижает латеральное смещение липидов и белков, изменяя тем самым функцию последних [95, 196, 198, 229].

Физиологическая значимость асимметрии фосфолипидов в мембране эритроцитов многообразна. Во-первых, текучесть внутреннего монослоя несколько больше, чем внешнего, за счет того, что «хвосты» жирных кислот, входящих в состав фосфатидилхолина и сфингомиелина, более насыщены. Это делает слой менее текучим по сравнению с теми, которые находятся в составе фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина внутренней поверхности. Во-вторых, отрицательно заряженный фосфатидилсерин, взаимодействующий с регуляторными и структурными белками, при нарушении асимметрии приводит к экспонированию фосфатидилсерина на наружной поверхности, что является сигналом к эритроптозу [49, 50, 82, 254], а также к изменению соотношения зарядов на внутренней и внешней сторонах бислоя мембраны эритроцита. Таким образом, асимметрия фосфолипидов определяет текучесть мембраны (*fragility*) и вносит важный вклад в поддержание механических свойств мембраны [95, 236].

#### Метаболические особенности эритроцита человека

Эритроцит является метаболически активной клеткой и содержит более 40 различных ферментов. Энергетическое обеспечение эритроцита осуществляется за счет утилизации глюкозы в реакциях анаэробного гликолиза. Эффективность гликолиза характеризуется образованием двух молекул АТФ на одну молекулу глюкозы, однако даже это небольшое количество энергии дает возможность эритроциту выполнять все его функции. Основная доля энергии АТФ расходуется в эритроцитах на транспорт ионов, функционирование АТФазных систем и поддержание электролитного баланса клетки. Макроэргические фосфатные связи АТФ необходимы также и для инициации реакций гликолиза и пентозофосфатного цикла [34].

Наиболее важные реакции гликолиза протекают с участием ферментов гексокиназы, фосфофруктокиназы и пируваткиназы. Отличительная особенность гликолиза в эритроцитах по сравнению с другими клетками — выработка значительного количества 2,3-дифосфоглицериновой кислоты, регулирующей кислородосвязывающую функцию гемоглобина.

Главная функциональная группа глутатиона — сульфгидрильная, ее водород обеспечивает нейтрализацию органических и неорганических окислителей, действующих на мембрану эритроцита, и защищает липиды мембраны от свободнорадикального окисления.

В условиях врожденной или приобретенной недостаточности энергообеспечения эритроцитов при нарушении активности гликолитических ферментов и ферментов пентозофосфатного окисления глюкозы возникает дестабилизация эритроцитарной мембраны, изменение формы эритроцита, гемолиз и выход гемоглобина в кровеносное русло.

Поскольку в эритроцитах отсутствуют митохондрии, система цитохрома, рибосомальный аппарат, соответственно, отсутствует цикл трикарбоновых кислот. Поэтому эритроцит не воспроизводит *de novo* нуклеиновые кислоты и липиды. Основным источником энергии для нормального функционирования эритроцитов является глюкоза, метаболизирующаяся по двум основным путям: это путь Эмбдена – Мейергофа и гексозомонофосфатный путь.

**Цикл гликолиза Эмбдена – Мейергофа.** Метаболизм глюкозы в цикле заканчивается образованием пирувата или лактата. Проникновение глюкозы в эритроцит происходит довольно быстро с помощью транспортера *GLUCO-1*, расположенного в мембране клеток.

Эффективность гликолиза характеризуется образованием двух молекул АТФ на одну молекулу глюкозы, однако это небольшое количество энергии обеспечивает эритроциту выполнение всех его функций. Основная доля энергии АТФ расходуется в эритроцитах на транспорт ионов, функционирование АТФазных систем и поддержание электролитного баланса клетки. Макроэргические фосфатные связи АТФ необходимы и для инициации реакций гликолиза и пентозофосфатного цикла.

Дефицит гексокиназы может быть одной из причин наследственной гемолитической анемии. Продукт гексокиназной реакции (глюкозо-6-фосфат) трансформируется в глюкозо-1-фосфат при участии фосфоглюкомутазы, а также находится в равновесии с фруктозо-6-фосфатом вследствие глюкозофосфатизомеразной реакции (ГФИ), имеющей большое метаболическое значение.

Дефицит глюкозофосфатизомеразы становится причиной достаточно часто возникающей наследственной несфероцитарной гемолитической анемии. Третья стадия цикла Эмбдена – Мейергофа включает фосфорилирование при участии фосфофруктокиназы фруктозо-6-фосфата до фруктозо-1,6-дифосфата (Ф-1,6-ДФ). Дефицит фермента Ф-1,6-ДФ является одной из причин нарушения накопления гликогена и развития наследственной гемолитической анемии. Далее в эритроците Ф-1,6-ДФ распадается на две триозы — глицеральдегидтрифосфат (ГАФ) и диоксиацетонфосфат (ДАФ). Глицеральдегидтрифосфат непре-

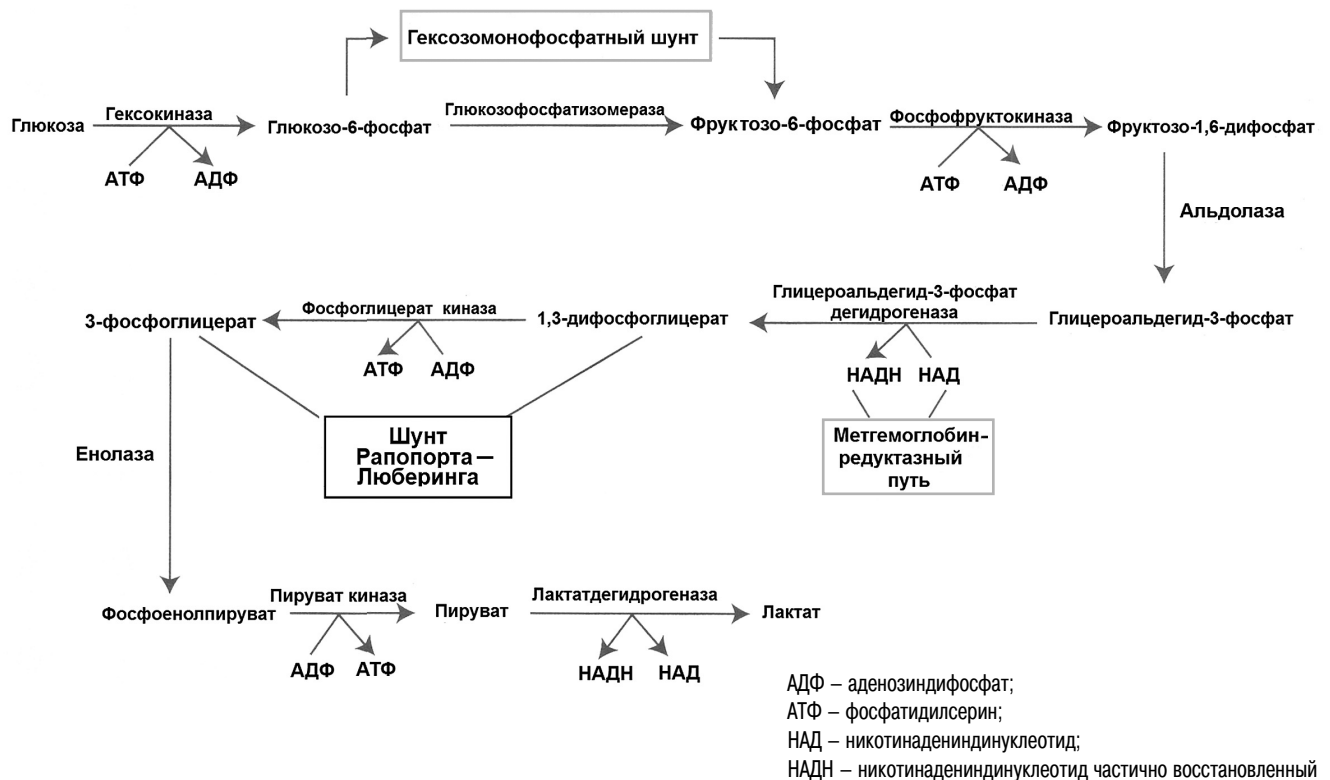


Рис. 2. Схема взаимосвязи метаболических путей эритроцита человека

рывно превращается в 1,3-ДФГ (дифосфоглицераль), который затем трансформируется в 2,3-ДФГ и 3-ФГ. Последний дефосфорилируется в 2-ФГ, который находится в равновесии с фосфоенолпируватом (ФЕП). В свою очередь ФЕП служит донором фосфата для участия АДФ на второй стадии синтеза АТФ в реакциях гликолиза в эритроцитах (рис. 2).

Вышеизложенное подтверждает большую значимость для поддержания стабильности эритроцитарной мембраны, обеспечивающее образование АТФ, интенсивность гликолитических реакций, и, соответственно, полноценное функционирование АТФазных систем и трансмембранного переноса ионов, а также состояние пентозного цикла окисления глюкозы и образование достаточного количества НАДФН<sub>2</sub> (никотинадениндинуклеотид восстановленный).

Кроме гликолиза в эритроцитах происходит прямое окисление глюкозы в пентозофосфатном цикле, на его долю приходится 10–11 % всего энергетического метаболизма клетки. Ключевыми ферментами пентозофосфатного цикла являются глюкозо-6-фосфатдегидротеназа, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа. В процессе пентозофосфатного окисления глюкозы образуется восстановленная форма кофермента НАДФ, используемая для восстановления глутатиона — основного компонента защитной антиоксидантной системы эритроцита.

**Гексозомонофосфатный путь.** Образующийся в гексокиназной реакции глюкозо-6-фосфат далее участвует в трех направлениях метаболизма в эритроцитах с участием ферментов фосфоглюкокиназы, глюкозофосфоизомеразы и глюкозо-6-

фосфатдегидрогеназы. В результате фосфоглюконатдегидрогеназной реакции в эритроцитах образуется рибулозо-5-фосфат, который находится в равновесии с рибозо-5-фосфатом и ксилулозо-5-фосфатом.

В физиологических условиях энергетические потребности эритроцитов покрываются в результате утилизации глюкозы в пути Эмбдена — Мейергофа и гексозомонофосфатном пути. Кроме того, эритроциты обладают способностью метаболизировать фруктозу, лактозу, галактозу и нуклеотиды, в частности инозин.

Наряду с этим в эритроцитах происходят реакции восстановления метгемоглобина. Как известно, в процессе диссоциации оксигемоглобина железо гемоглобина приобретает двухвалентное ферросостояние. В ряде случаев кислород отрывается в виде супероксиданионрадикала, забирает один электрон у железа и превращает гемоглобин в метгемоглобин. В присутствии восстановленного глутатиона и аскорбиновой кислоты метгемоглобин восстанавливается до гемоглобина.

Увеличение образования 2,3-ДФГ снижает сродство гемоглобина к O<sub>2</sub>, что приводит к сдвигу кривой диссоциации оксигемоглобина вправо и усиленному поступлению O<sub>2</sub> в ткани. Сдвиг кривой вправо возникает также при увеличении температуры тела, возрастании уровня CO<sub>2</sub> или на фоне развития метаболического ацидоза.

Таким образом, лишенный глюкозы эритроцит постепенно деградирует, переходя в эхиноцит, сфероцит и затем подвергается эриптозу, поскольку

теряет способность поддерживать градиент натрия и калия и накапливает окисленный глутатион и метгемоглобин в условиях окислительного стресса.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОЦЕССА ЭРИПТОЗА

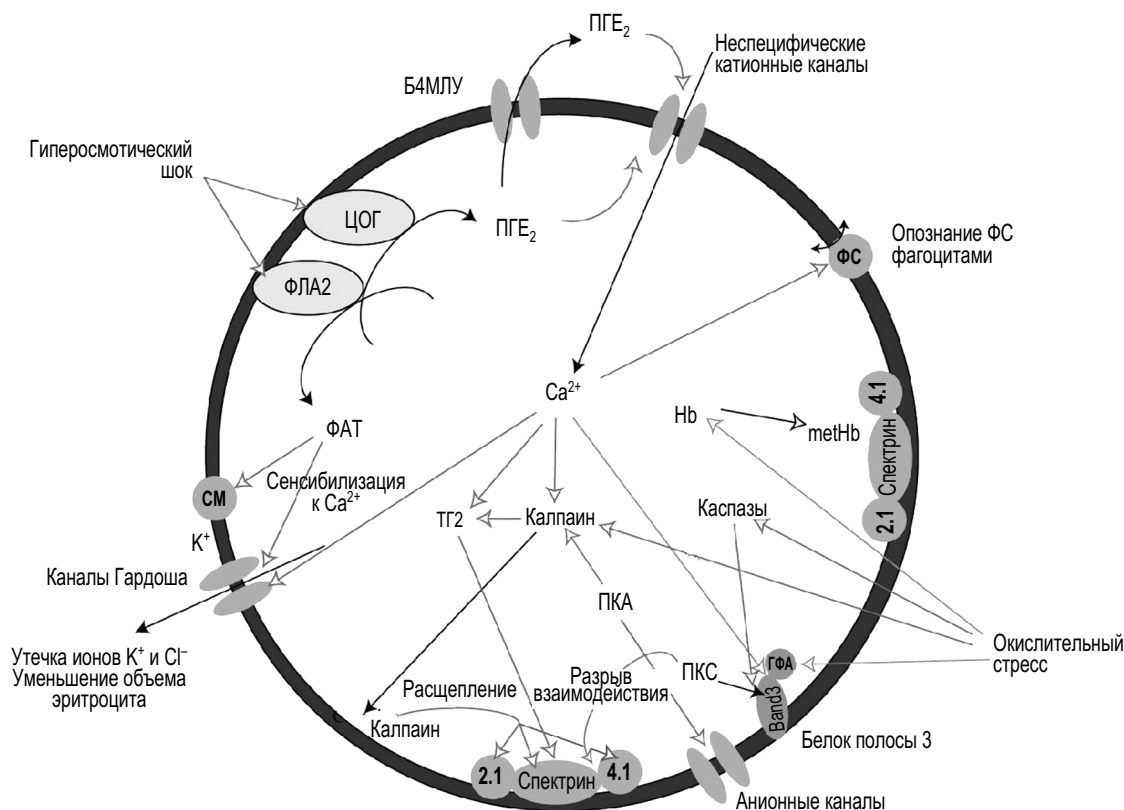
Многочисленными исследованиями установлено, что эритроцитоз запускается прежде всего повышением внутриклеточной концентрации свободных ионов кальция, а также рядом веществ эндогенного и экзогенного происхождения: металлами и их соединениями, лекарственными препаратами и ксенобиотиками [26, 27, 51, 90, 91, 267, 268]. Воздействие этих веществ либо запускает механизмы, связанные с повышением внутриклеточной концентрации свободных ионов кальция и усилением выработки эндогенного церамида, либо активирует дополнительные механизмы, такие как энергетическое истощение по АТФ, окислительный стресс и/или активация каспазы 3. Доказано, что одновременно могут запускаться несколько механизмов [2, 172, 192, 241, 289, 290].

### 1. Накопление внутриклеточных ионов $Ca^{2+}$ — основа механизма эритроцитоза

В работах исследовательской группы профессора Ф. Ланга (ФРГ) установлено, что ключевой

механизм, запускающий эритроцитоз, обусловлен повышением внутриклеточной концентрации свободных ионов кальция [183, 186, 187]. Показано, что увеличение концентрации свободных ионов кальция в цитозоле эритроцитов может происходить в результате активации неселективных катионных каналов. До настоящего времени белки, выполняющие функцию катионных каналов, не идентифицированы, хотя предполагается участие TRPC6-канала (англ. transient receptor potential channel 6) [179]. Осмотический шок, окислительный стресс и удаление ионов хлора из среды инкубации также приводят к активации катионных каналов в эритроцитах человека. При гиперосмотическом шоке эритроцитов происходит стимулирование активности фермента циклооксигеназы, что приводит к образованию простагландина  $E_2$  (рис. 3), который в конечном итоге активирует неселективные катионные каналы [183]. Следует подчеркнуть, что по-прежнему существуют противоречивые данные о наличии в эритроцитах двух известных изоформ циклооксигеназы, имеющих в других клетках. Например, циклооксигеназа-1 присутствует в эндоплазматическом ретикулуме всех клеток за исключением эритроцитов, а циклооксигеназа-2 обнаружена в эндоплазматическом ретикулуме клеток головного мозга, почек, костей и женской репродуктивной системы [195].

Установлено, что после повышения внутриклеточной концентрации свободных ионов кальция



ПГЕ<sub>2</sub> — простагландин E<sub>2</sub>; ЦОГ — циклооксигеназа; ПКК — протеинкиназа C; Б4МЛУ — белок 4 множественной лекарственной устойчивости; ФС — фосфатидилсерин; ФЛА2 — фосфолипаза A<sub>2</sub>; PKA — протеинкиназа A; Hb — гемоглобин; SM — сфингомиелиназа; ФАТ — фактор активации тромбоцитов; ТГ2 — трансглутаминаза 2; metHb — метгемоглобин

Рис. 3. Схема центральной роли действий ионов  $Ca^{2+}$  в механизме эритроцитоза

события в эритроцитах могут развиваться в двух направлениях. С одной стороны, свободные ионы кальция стимулируют «скрамблинг» всех классов фосфолипидов мембраны эритроцита с перераспределением «маркерного» фосфатидилсерина из внутреннего во внешний липидный монослой [2]. С другой стороны, повышение внутриклеточного содержания свободных ионов кальция активирует калпаин-цистеиновую эндопептидазу, представляющую собой фермент, субстратами которого являются белки цитоскелета: спектрин, актин и белок полосы 3 [17, 264], а также мембраносвязанный транспортер  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза, то есть  $\text{Ca}^{2+}$ -помпа, отвечающая за транспорт ионов кальция из клетки [288]. В естественных условиях в эритроцитах человека калпаин находится в цитоплазме в неактивной форме. Однако в процессе повышения концентрации ионов кальция внутри клетки калпаин перемещается из цитоплазматического пространства в мембрану, где подвергается аутопротеолитической активации. Более того, активированный в эритроцитах калпаин может, в свою очередь, протеолитически стимулировать каспазу 3, субстратами которой наряду с другими компонентами являются спектрин и актин [206, 294]. Таким образом, комплексное развитие, описанных выше событий приводит к перемещению «маркерного» фосфатидилсерина на поверхность эритроцита, активной везикуляции эритроцита, ускоренного уменьшения объема клетки — морфологических признаков эритроцитоза (см. рис. 3).

## 2. Изменение ионного баланса в эритроцитах в процессе циркуляции

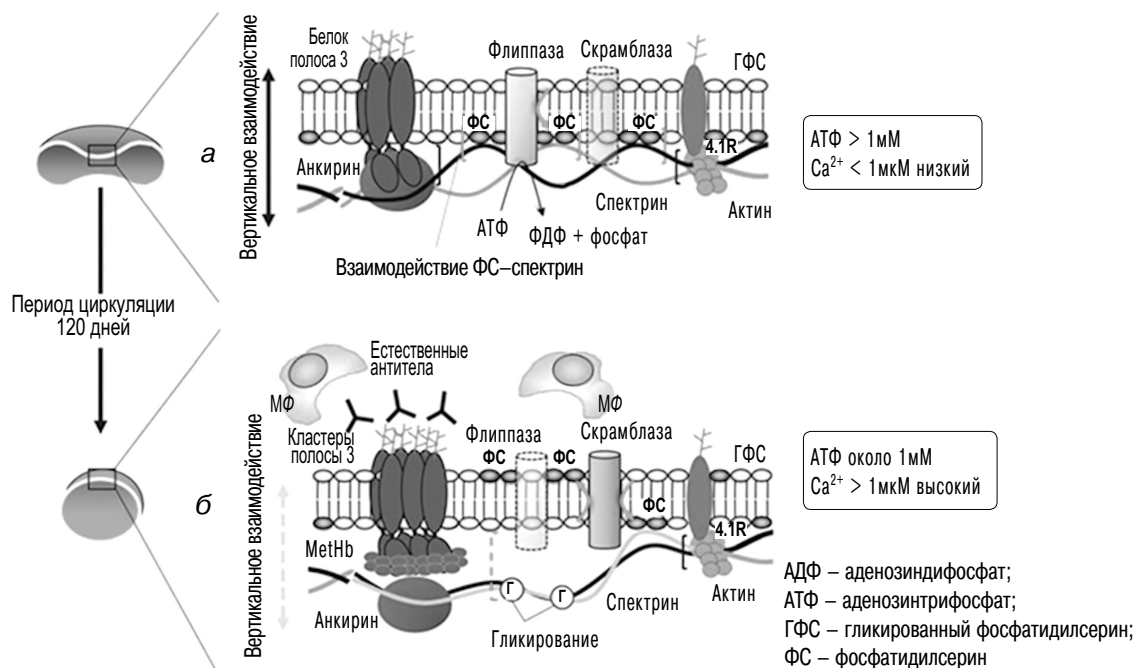
Как мы уже отметили, накопление свободного  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме эритроцитов активирует  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительные  $\text{K}^+$ -каналы (каналы Гардоша), что, в свою очередь, приводит к выходу ионов кальция из клеток параллельно с потерями осмотической воды. В эксперименте показано, что каналы Гардоша могут быть стимулированы локальной деформацией мембраны, которая напоминает быструю деформацию эритроцитов в кровеносных капиллярах [87, 151, 152]. Потеря клетками ионов калия и хлора и последующая дегидратация стареющих эритроцитов в первые несколько недель после выхода в кровеносное русло также зависит от функциональной активности  $\text{K}^+$ -Cl-котранспортера [112]. Эти процессы играют ключевую роль в постепенном увеличении плотности стареющих эритроцитов. Они не способны проходить через узкие щели между эндотелиальными клетками синусоидов в селезенке, поэтому макрофаги ретикулоэндотелиальной системы распознают их и удаляют из циркуляции.

В настоящее время эта гипотеза старения эритроцитов в связи с новыми данными об эритроцитозе требует совершенствования. Например, относительно недавно в крови человека была описана небольшая субпопуляция старых эритроцитов, которые устойчивы к дегидратации после увеличения содержания

внутриклеточного калия, индуцированного ионофором валиномицином, или после входа  $\text{Ca}^{2+}$  в клетки, индуцированные ионофором A23187, то есть такие клетки не способны сжиматься и контролировать свой объем [63, 196, 214]. Эти эритроциты, названные авторами *valres* ( $0,031 \pm 0,034$  % от общего числа эритроцитов) и *calres* ( $3,2 \pm 1,1$  %), обычно выделяются из фракции наименьшей плотности, которая содержится в основном ретикулоциты, но имеет высокие значения гликированного гемоглобина HbA1c, что является подтверждением, что эти клетки представляют собой самые старые эритроциты в кровеносном русле, готовые к удалению из циркуляции [194, 196]. Такие эритроциты содержат низкие концентрации калия и высокие — натрия, причем отношение Na/K в них на порядок выше, чем в общей нефракционированной популяции эритроцитов. Такой процесс приводит к постепенному накоплению ионов натрия, хлора и воды. Открытие старых *valres* и *calres* эритроцитов означает, что последняя терминальная стадия их жизни может быть более сложной, по крайней мере для некоторых клеточных популяций. Исследователи сделали вывод, что часть эритроцитов в течение жизни сначала проходит длительную фазу постепенной дегидратации, за которой следует стадия регидратации перед удалением таких клеток из циркуляции. Этот феномен был назван *terminal density reversal* [196], позже он был подтвержден и в другой работе [197].

Постепенное снижение активности мембранного  $\text{Ca}^{2+}$ -насоса в стареющих эритроцитах нарушает баланс между выходом  $\text{Ca}^{2+}$  из клеток и его поступлением в клетку через  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы; это приводит к увеличению содержания в цитоплазме свободного  $\text{Ca}^{2+}$ , в конечном счете превышающего пороговое значение, достаточное для активации каналов Гардоша [284, 285]. Эти события приводят к потере клетками ионов калия и хлора и осмотически необходимой воды, что ведет к увеличению плотности клеток. Исследования показали, что активность каналов Гардоша и  $\text{K}^+$ -Cl-котранспортера [281], обеспечивающие градиент ионов калия через мембраны, постепенно снижается в процессе старения эритроцитов [112, 139, 280], однако молекулярные изменения, лежащие в основе такого снижения активности, пока не выяснены. Теоретически возможны как модификация самих молекул ион-транспортирующих систем, например их протеолиз или агрегация, так и их фосфорилирование/дефосфорилирование вследствие изменения активности протеинкиназ и протеинфосфатаз, регулирующих функционирование ионных переносчиков. В противоположность этому в последние дни жизни эритроцитов в кровеносном русле наблюдается резкое увеличение проницаемости мембраны для ионов натрия, достаточное для превышения способности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса выбрасывать ионы натрия из клетки. В эритроцитах человека, как показано, вход ионов натрия через слабоселективные катион-





**Рис. 4.** Обобщенная схема последовательности событий эриптоза на мембране эритроцитов [33, с изм.]: *a* — состояние мембранных элементов у молодых и зрелых эритроцитов; *b* — структурная трансформация мембраны у старых или поврежденных эритроцитов (эриптоз)

ные каналы стимулируется преимущественно увеличением содержания ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и в меньшей степени дегидратацией [58, 261]. Кроме того, увеличение проницаемости мембраны для ионов натрия может быть следствием активации  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника, поскольку показано, что внутриклеточный рН старых эритроцитов смещается в щелочную сторону [197, 260]. Предполагается, что  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменник также активируется повышенным уровнем ионов  $\text{Ca}^{2+}$  [228]. Активация этих ион-транспортующих систем, позволяющая накоплению ионов натрия и хлора превысить потери ионов калия и хлора, приводит к набуханию эритроцитов низкой плотности за счет высокого содержания натрия как полагают, это является ключевым механизмом терминального обращения плотности (terminal density reversal) в самых старых эритроцитах. Нарушения ионного баланса в старых эритроцитах приводит с изменению структуры их мембран и, соответственно, их реологических параметров. Отметим, что в норме высокая способность к деформации помогает эритроцитам диаметром 7–8 мкм проходить через узкие кровеносные капилляры диаметром 3–5 мкм и через щели шириной 1–2 мкм между клетками эндотелия в синусоидах селезенки [76, 78]. Исследования эритроцитов фракций разной плотности показали постепенную потерю эритроцитами способности к деформации в процессе старения. Максимальный индекс деформируемости для наиболее плотных (0,8 % общей фракции) эритроцитов составляет 68 % от средней величины индекса деформируемости целой фракции, причем эта величина одинакова для эритроцитов человека, кролика и мыши [295]. При этом показано, что у старых

эритроцитов замедляется скорость восстановления формы клеток после деформации [65, 222].

Однако в процессе естественного старения, так же как и до их старения, эритроциты могут получить повреждения, которые ставят под угрозу их целостность, функции и выживание [1, 183, 185]. При этих обстоятельствах эритроциты подвергаются процессу ускоренной деградации клеток (эриптозу), напоминающему апоптоз. Этот процесс запускает механизм избавления от дефектных клеток, не нарушая целостности клеточной мембраны и не производя выброс цитозольного материала во внешнюю среду [15, 243]. Эриптоз эритроцитов характеризуется расстройством асимметрии фосфолипидов клеточной мембраны, в ходе которого происходит перемещение фосфолипида клеточной мембраны от внутреннего слоя билипидной мембраны к внешнему слою, процесс регулируется флиппазой [299, 300]. Эта трансформация мембраны похожа на апоптоз ядросодержащих клеток, где флиппаза обслуживает архитектуру фосфолипидов мембраны [96, 287]. Морфологически пораженные эриптозные эритроциты также связаны с трансформацией объема клетки и формированием выпячиваний на поверхности клетки [172, 174, 242]. В эриптозных эритроцитах может изменяться эластичность клеточной мембраны [243]. Макрофаги опознают эриптозные эритроциты, фагоцитируют и разрушают, таким образом они, подобно апоптозным ядросодержащим клеткам, удаляются из кровообращения (см. рис. 4) [179, 183, 242].

Выше было указано, что ключевым механизмом, запускающим эриптоз, является увеличение концентрации цитозольных ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , следующей

за активацией  $\text{Ca}^{2+}$ -проницаемых неспецифических катионных каналов, что приводит к поступлению внеклеточных ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в эритроциты [186, 300]. Пока молекулярная идентичность этих каналов остается неустановленной, однако считается, что они включают переходный канал рецептора TRPC6 [103]. Установлено, что стрессорные воздействия на клетку, такие как осмотический шок, энергетическое истощение и гипертермия, также могут привести к активации этих каналов [14, 100]. Катионные каналы, необходимые для поступления ионов кальция, могут быть смодулированы эндогенными медиаторами, такими как простагландин  $\text{E}_2$  [187] и гормональный гликопротеин эритропоэтин [216]. Экспериментально установлено, что у эритроцитов, взятых от мышей, дефектных по аннексину A7, регистрировалась увеличенная чувствительность к проэриптозным эффектам повышения концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , которая была сопоставима с увеличением концентрации простагландина  $\text{E}_2$  [177]. В результате увеличения концентрации цитоплазматического  $\text{Ca}^{2+}$  происходит активация особого мембранного преобразователя скрамблазы (scramblase), что, в свою очередь, вызывает перемещение фосфатидилсерина из внутреннего слоя во внешний слой клеточной мембраны эритроцита (этот процесс именуется экспозицией фосфатидилсерина) [14, 33, 143]. Результаты недавних исследований свидетельствуют, что при физиологических условиях подавление деятельности скрамблазы, а не активности флиппазы, крайне важно для поддержания фосфатидилсерина во внутреннем слое мембраны эритроцита [34, 146, 148]. Увеличенная концентрация цитоплазматических ионов  $\text{Ca}^{2+}$  также влияет на деятельность каналов Гардоша, которые способствуют выходу ионов калия из клетки, что вызывает гиперполяризацию клеточной мембраны, клеточную дегидратацию и уменьшение объема клетки [71]. Увеличенная концентрация цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  трансформирует цитоскелет и активирует большое разнообразие  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительных ферментов, таких как трансглутаминаза [30], фосфолипаза [28], калпаин [264], киназа белка и фосфатазы [80, 214].

Независимо от увеличения концентрации внутриклеточных ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , эриптоз может быть индуцирован прекращением взаимодействия цитоскелета с клеточной мембраной, вызванное разрушением сфингомиэлина и последующим формированием церамида [86, 178, 181]. Формирование церамида во время эриптоза может происходить совместно с увеличением концентрации внутриклеточных ионов  $\text{Ca}^{2+}$  [174] в результате биотрансформации сфингозина под влиянием фермента церамидсинтетазы. При этом киназа сфингозина 1 катализирует формирование сфингозин-1-фосфата из сфингозина [141, 304]. Эритроциты имеют недостаток фермента сфингозин-1-фосфата и, таким образом, накапливают сфингозин-1-фосфаты [42]. Было зарегистрировано, что сфингозин, но не сфингозин-

1-фосфаты, вызывает  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимый эриптоз, указывающий на важную роль метаболизма сфинголипидов в регулировании жизни и смерти эритроцита [246]. Церамид ускоренно синтезируется после воздействия на эритроциты осмотического шока [185, 189]. Осмотический шок вызывает формирование фосфолипаза  $\text{A}_2$ -зависимого тромбоцитоактивного фактора, который, в свою очередь, вызывает расстройство сфингомиэлина с последующим образованием церамида [116, 189]. Эритроциты также могут экспрессировать каспазы, участвующие, в отличие от апоптоза ядродержащих клеток, в эриптозе при определенных условиях: это или окислительный стресс, или экспозиция поверхности клетки к цистеинил-лейкотриену  $\text{C}_4$  [52, 104]. Показано также, что активация каспаз не требуется, если индукция эриптоза осуществляется внутриклеточными ионами  $\text{Ca}^{2+}$  [183].

### 3. Окислительный стресс

Эритроциты в процессе кровообращения постоянно подвергаются действию окислительного стресса, в нормальных клетках он нейтрализуется антиокислительными защитными механизмами. Они включают поглотители активной формы кислорода (АФК), в том числе глутаминил-цистеинил-глицин и ферменты: супероксиддисмутазу, каталазу, пероксиредоксин 2 и глутатион пероксидазу [129, 237]. Существенно, что неустойчивость окислительно-восстановительного потенциала эритроцита сопровождается активацией неспецифических катионных каналов, что ведет к поступлению внутрь клетки ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и, следовательно, индуцированию эриптоза [87, 88]. Показано, что эритроциты мышей, дефектных по глутамат-цистеиновой лигазе, имеют увеличенную уязвимость для эриптоза, вызванного окислительным стрессом и гемолизом [102]. Кроме того, у таких мышей обнаружили серьезное повреждение функций почек [102]. Генетический дефект фермента глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы гексозомонофосфатного шунта вызывает сенсбилизацию эритроцитов к повреждениям от окислительного стресса, приводящим их к эриптозу [125]. Чувствительные к окислительному стрессу изменения в эритроцитах прогрессивно увеличиваются с возрастом эритроцита, то есть более старые эритроциты имеют большую склонность к эриптозу [124, 152, 300]. Этот механизм может быть задействован при повреждении эритроцитов во время хранения донорских компонентов крови [168, 247, 248, 306]. Таким образом, баланс окислительно-восстановительного потенциала эритроцита — это ключевая детерминанта, определяющая выживание эритроцитов при изменении окружающих условий.

Так же как ядродержащие клетки, эритроциты экспрессируют большое количество других сигнальных молекул, включая киназы, которые весьма чувствительны к стрессорным условиям: осмотическому шоку, окислительному стрессу или энергетиче-

ческому истощению [179, 185, 241]. В течение последних 20 лет исследовались фармакологические ингибиторы и/или активаторы различных сигнальных молекул и их воздействие на эритроциты, вызванный в результате экспонирования клетки к различным патофизиологическим стрессам [179, 185, 241]. Многие из этих фармакологических модуляторов эритроцитоза охватывают не только клинически используемые лекарства, но и ксенобиотики, а также микробные токсины и ионы металлов [75, 84, 94, 178, 308].

Установлено, что под действием стресса в клетках активируются киназы: р38 митогенактивированная протеинкиназа (mitogen-activated protein kinases, MAPK) и янус-киназа JAK3, которые в процессе активации подвергаются фосфорилированию [116, 134]. При осмотическом шоке [185] фармакологическое ингибирование киназы р38 MAPK приводит к увеличению внутриклеточной концентрации ионов  $Ca^{2+}$  и экспонированию фосфатидилсерина с последующим уменьшением объема эритроцита [116]. Проведенная при этом дополнительная обработка эритроцитов иономицином приводит к ослаблению экспозиции фосфатидилсерина, что позволяет предположить, что активация р38 MAPK связана с активностью внутриклеточных ионов  $Ca^{2+}$  во время эритроцитоза [116].

#### 4. Энергетическое истощение

Мы уже упоминали, что экспрессированная эритроцитом янус-киназа JAK3 фосфорилируется в процессе энергетического истощения [134]. В этой же работе продемонстрировано, что введение ингибиторов киназы JAK3 может восстанавливать эритроцитоз. Исследование повышения устойчивости эритроцитоза, вызванного истощением глюкозы эритроцитов, взятых от мышей, дефектных по JAK3, подтвердило, что JAK3 — решающая сигнальная молекула для эритроцитоза, чувствительного к энергетическому истощению [134].

Чувствительный к энергетическому истощению эритроцитоз обычно выявляется активацией протеинкиназы С, процесс сопровождается перемещением киназы из цитозоля к клеточной мембране [163]. Такой эритроцитоз нейтрализуется при помощи включения энергочувствительного фермента АМФ-киназы, который, в свою очередь, активируется истощением глюкозы [108]. В эксперименте показано, что эритроциты мышей шестинедельного возраста, дефицитных по АМФ-киназе, имели повышенный эритроцитоз, что сопровождалось тяжелой анемией животных, ретикулоцитозом и высокой спленомегалией, а также возрастанием деструкции и ускоренного оборота эритроцитов при циркуляции [108]. Кроме того, протеомный анализ эритроцитов таких мышей показал ослабление регуляции р21-активированной киназы 2 (р21-ПАК2) и казеинкиназы Ia (KKIa), которые также участвуют в эритроцитозе эритроцитов [168, 306, 307]. Согласно экспериментам *in vitro*, фармакологи-

ческое ингибирование киназы р21-ПАК2 усиливало вызванный истощением глюкозы эритроцитоз эритроцитов мышей, дефектных по АМФ-киназе, по сравнению с нормальными эритроцитами простых мышей [308]. По этой причине уменьшение концентрации киназы р21-ПАК2 может способствовать усилению эритроцитоза при анемии, наблюдаемой у мышей, дефектных по АМФ-киназе [307]. В других экспериментах показано, что усиленная экспрессия киназы KKIa является важным регулятором эритроцитоза эритроцита [307]. При обработке гидроперекисью трет-бутила или энергетическом истощении эритроциты, предварительно обработанные D4476 (неспецифическим ингибитором KKIa), были защищены от эритроцитозных изменений, включая блокирование уменьшения объема клетки, блокирование увеличения экспонирования фосфатидилсерина и активности цитоплазматического  $Ca^{2+}$ . Однако обработка клеток *Pyruvium Pamoate* активатором KKIa усиливала эритроцитоз эритроцитов, вызванный окислительным стрессом или энергетическим истощением [84]. Согласно электрофизиологическим экспериментам, *Pyruvium Pamoate* усиливал поток ионов кальция через неизбирательный катионный канал, который был предварительно активирован инкубацией эритроцитов в среде, свободной от хлора [169].

Эритроцитоз замедляется цГМФ-зависимой киназой типа 1 (цГМФ-КК1), мыши, дефектные по этой киназе, анемичны и имеют увеличенную селезенку, а их эритроциты *in vivo* демонстрируют сокращенную продолжительность жизни и ускоренный клиренс [101]. Установлено, что оксид азота (NO), как эндогенный медиатор и стимулятор цГМФ-зависимой киназы, является самостоятельным сильным ингибитором эритроцитоза [224]. Выявлено, что NO не запасается в эритроцитах, а образуется в процессе метаболизма после деоксигенации гемоглобина [128]. Известно, что при апоптозе ядродержащих клеток NO не блокирует действие каспаз [261]. Однако в эритроцитах NO более эффективен при уменьшении эритроцитоза клеток, противодействуя увеличению концентрации внутриклеточных ионов  $Ca^{2+}$ , которая вызывается различными стрессорами клетки и нитрозиацией ферментов, требуемых для скрамблирования клеточной мембраны [217, 263]. Интересно, что обработка эритроцитов иономицином ослабляет S-нитрозиацию белка, в том числе антиапоптозный фермент тиоредоксин, который способен управлять балансом окислительно-восстановительного потенциала эритроцитов [87, 263].

Совсем недавно выяснили, что эритроцитоз может регулироваться митоген- и стрессактивируемой киназой MCK1/2 [172], которая осуществляет обратную регуляцию тесно связанных между собой киназ, регулируемых сигналами киназ MACK1/2 и р38 MAPK, что крайне важно для осуществления большого количества функций клетки, включая апоптоз ядродержащих клеток [256]. В то время как у дефицитных по MCK1/2 мышей наблюдается клинически

регистрируемая анемия, в их крови определяются усиленный ретикулоцитоз и сокращенная продолжительность жизни эритроцитов [173]. При отсутствии стресса в анализе эритроцитов мышей, дефицитных по МСК1/2, не отмечены увеличенное экспонирование фосфатидилсерина или другие морфологические изменения, характерные для эриптоза. Однако в ответ на увеличение внеклеточной осмолярности или при истощении глюкозы у эритроцитов мышей, дефицитных по МСК1/2, определяют более высокую степень восприимчивости к эриптозу; наряду с этим регистрируют увеличенную хрупкость мембраны эритроцитов в ответ на уменьшение внеклеточной осмолярности [173]. В недавнем исследовании показано, что циклинзависимая киназа 4 (ЦЗК4) представляет собой эффективный регулятор прогрессии клеточного цикла и транскрипции в ядросодержащих клетках [169], при этом установлено, что ЦЗК4 экспрессируется и в эритроцитах человека [183]. Использование различных фармакологических ингибиторов клеточных киназ на модели эритроцита позволило выяснить, что ЦЗК4 киназа принимает участие в эриптозе, вызванном окислительным стрессом или изоосмотическим уменьшением объема эритроцита при удалении внутриклеточных ионов хлора [183].

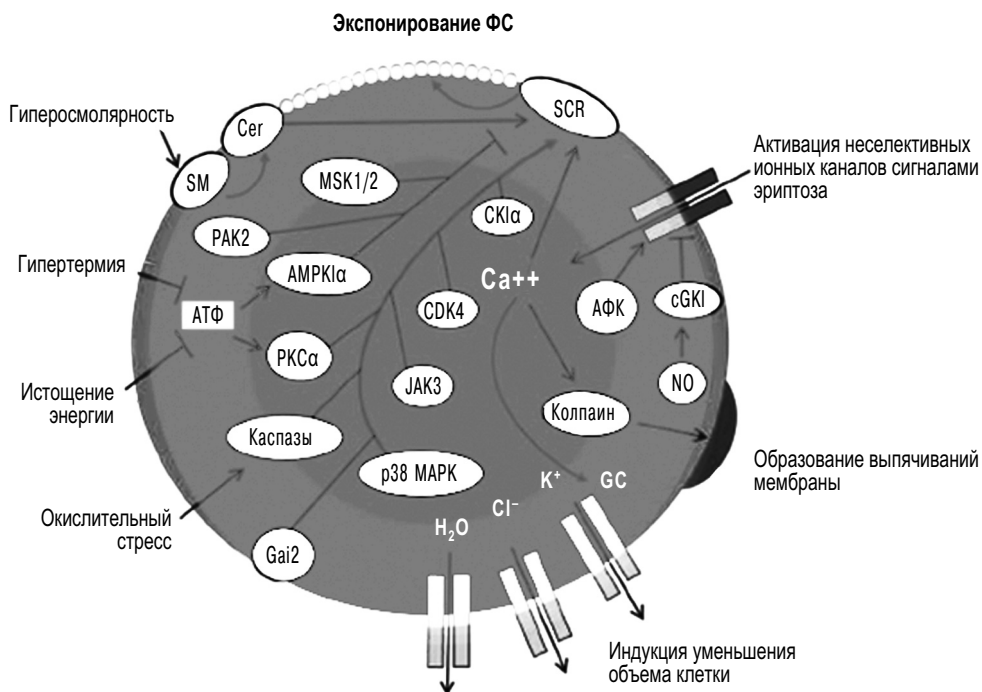
### 5. Рецепторы клеточной мембраны эритроцитов как регуляторы эриптоза

Выживание эритроцита, как и контроль его программируемой гибели, модулируется различными

рецепторами, выраженными на клеточной мембране. Общая схема взаимосвязи этих важных молекулярных механизмов (см. разделы 3 и 4) с участием различных рецепторов представлена на рис. 5.

В подробных исследованиях выявлено, что рецепторы глутамата эффективны в регулировании апоптоза нейронов [215]. Впоследствии было показано, что такие же рецепторы экспрессируются и на мембране эритроцитов [105]. При дальнейшем изучении неспецифических катионных каналов, вовлеченных в эриптоз, была установлена высокая чувствительность эритроцитов к эриптозу при активации рецептора GluA1 [105, 255]. Другой механизм, связывающий зависимость от рецептора активацию неспецифических катионных каналов с эриптозом эритроцитов, включает модуляцию рецептора стеинил-лейкотриена CysLT1 через цистеинил-лейкотриен C<sub>4</sub> [44]. Активация этих рецепторов не только ведет к увеличению концентрации внутриклеточных ионов Ca<sup>2+</sup>, но и стимулирует активацию каспазы 3 и 8 и, таким образом, позволяет выявить дихотомический эриптоз, включаемый как по Ca<sup>2+</sup>-зависимому, так и по Ca<sup>2+</sup>-независимому механизму [104].

В исследованиях, проведенных в первое десятилетие XXI в., установлено, что активация клеточных эффекторов в ядросодержащих клетках может быть смодулирована G-рецепторами белков, которые активируют гетеротримерные белки путем закрепления лиганда и, таким образом, осуществляют регулирование многих функций клетки, в том числе регулирование ионных каналов, клеточную



AMPKα — AMPK активированная киназа белка Iα; Gai2 — ai2-субъединица белка G;  
 ATP — аденозинтрифосфат; JAK3 — янус-киназа 3;  
 CDK4 — циклинзависимая киназа 4; MSK1/2 — митоген- и стресс-активированные киназы белка 1 и 2 [256];  
 Cer — церамид; NO — окись азота;  
 cGKI — цГМФ-зависимая киназа белка 1; p38 MAPK — p38 активированные митогеном киназы;  
 CKIα — киназа казеина Iα; PAK2 — p21 активированная киназа 2;  
 PKCα — киназа белка α; ФС — фосфатидилсерин;  
 АФК — активные формы кислорода;  
 SCR — скрамблаза;  
 SM — сфингомиелин

**Рис. 5.** Сигнальные молекулы и факторы, регулирующие эриптозную машину

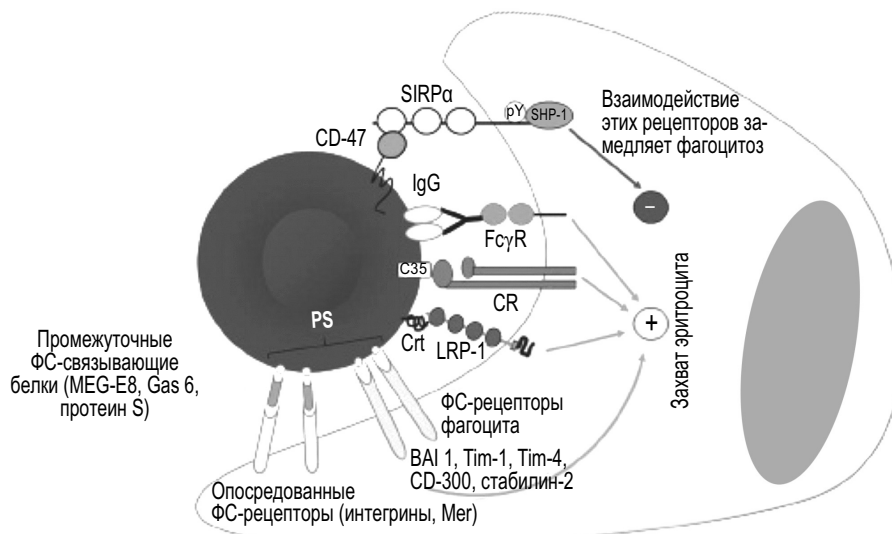
дифференцировку, пролиферацию и программируемую гибель [130, 243]. Данные экспериментов последних лет подтверждают, что рецептор Gai2, как количественно преобладающая субъединица белка G, экспрессируется в эритроцитах не только крысы, но и человека [59]. В этой же работе в опытах на мышах, дефектных по гену *Gai2*, был продемонстрирован фенотип приглушенного эриптоза, сопряженного с восстановлением содержания ионов  $Ca^{2+}$ , и выявлено уменьшение как активности сфингомиелиназы так и формирования церамида. Показано также, что эриптоз может регулироваться эндотелин-опосредуемым рецептором, так как эритроциты и человека и крысы экспрессируют В-рецептор эндотелина [106]. В экспериментах *in vitro* установлено, что обработка эритроцитов эндотелином 1 противодействует эриптозу, причем у мышей, дефектных по В-рецептору эндотелина, ускоряется клиренс эритроцитов. Таким образом, наглядно продемонстрирована связь активации рецептора лиганда с физиологической функцией предотвращения эриптоза эритроцитов [106].

### 6. Эритрофагоцитоз как терминальная стадия эриптоза

Установлено, что старые эритроциты обычно выводятся из кровообращения экстравазальным гемолизом, который реализуется определенными субпопуляциями макрофагов, преимущественно расположенными в селезенке и печени [164, 209]. Точный вклад этих двух органов в эритрофагоцитоз эритроцитов людей все еще обсуждается [65, 66]. Тем не менее исследования последнего десятилетия показали, что восприимчивость макрофагов печени к захвату эритроцитов преимущественно связана

со стрессом или возникает при воспалительных заболеваниях [277, 280]. Однако неясно, могут ли субпопуляции макрофагов селезеночной красной пульпы и клетки Купфера печени быть оборудованы механизмами, способными эффективно разложить без токсического эффекта такое большое количество восстановленного гема и освободившихся ионов железа [114, 165, 166].

Конкретные причины, по которым стареющие эритроциты выводятся из кровообращения через 120 дней после их выхода из костного мозга человека, все еще не ясны. Однако удаление стареющих эритроцитов наиболее вероятно представляет собой следствие нарушения их основных функций, то есть способности подвергаться деформации и изменениям поверхности клетки, что приводит к узнаванию таких дефектных эритроцитов макрофагами [97, 164, 210]. Проникновение стареющих эритроцитов через узкие продольные щели селезеночной красной пульпы, в результате пониженной способности подвергаться деформации, все более замедляется, и макрофаги со временем могут взаимодействовать с поверхностью эритроцита, в свою очередь увеличивая вероятность, что старые или поврежденные эритроциты будут действительно узнаны и удалены из кровообращения [276]. Было предложено несколько механизмов узнавания и восприимчивости фагоцитом стареющих эритроцитов [65, 164]. Все они принадлежат эволюционно хорошо сохранным механизмам для узнавания макрофагами «чужого» и включают установленные рецепторами Fcγ (FcγRs) или рецепторами комплемента (CRs) на макрофаге фагоцитоз, признавая Fc-домен иммуноглобулина IgG или фактора комплемента C<sub>3b</sub> соответственно [97] (рис. 6). Как описано выше, старение эритроцита связано с вклю-



**Рис. 6.** Схема эритрофагоцитоза. *Примечание.* Эритрофагоцитоз может стимулироваться рецепторами: FcγR, узнаваемыми IgG; рецептором комплемента CR, узнаваемым фактором комплемента C<sub>3b</sub>; LDL рецептором, связанным с белком LRP-1, узнаваемым рецептором кальретикулина (Crt); фосфатидилсеринным рецептором (ФС — PS), непосредственно связывающим фосфатидилсерин на эритроците или рецептором фосфатидилсерина на эритроците, связывающим промежуточные ФС белки, привязанные к опосредованному ФС-рецептору фагоцита. Ингибирующий рецептор SIRPα на фагоцитах связывается с CD47 на эритроцитах и может замедлять фагоцитоз, стимулируемый FcγR, CR или LRP-1

чением изменений белка полосы 3, что приводит к закреплению естественных антител антиполосы 3 и рецептора комплемента C<sub>3b</sub> на поверхности эритроцитов [31, 206]. При повышении уровня IgG и/или опсонизированных C<sub>3b</sub> на эритроцитах, совпадающих с приближением к возрасту 120 дней, как следствие, эти изменения затрагивают большое число рецепторов FcγR<sub>s</sub> и CR<sub>s</sub> у макрофагов, со временем их становится достаточно, чтобы вызвать эритрофагоцитоз [37, 205].

Наряду с кальций-зависимым механизмом эритрофагоцитоза был предложен дополнительный рецептор-зависимый механизм, продемонстрированный при удалении стареющих эритроцитов. Один из его этапов — узнавание трансформированного фосфатидилсерина, перемещенного на поверхность эритроцита в результате расстройств асимметрии фосфолипидов мембраны [161, 251]. Исследователи установили, что фосфатидилсерин могут непосредственно узнавать многие рецепторы макрофага, включая стабиллин-2, BA11, Tim-1, Tim-4, CD300 [37, 97]. Все другие рецепторы, включая интегрины и рецептор Mer тирозинкиназы, могут узнавать фосфатидилсерин на поверхности клетки опосредованно через шунтирующие белки, связывающие фосфатидилсерин (MFG-E8, Gas 6, протеин S) (см. рис. 5). Однако восприимчивость фосфатидилсерина, вероятно, не главная особенность посреднической функции фагоцитоза для физиологически стареющих или поврежденных эритроцитов, а, скорее, механизм, чаще включаемый при фагоцитозе эритроцитов [65, 112, 160, 170]. Фагоцитоз и жизнеспособность апоптозных клеток, включая эритроциты, может определяться рецептором LDL, связанным с рецептором белка 1 (LRP-1/CD91), который узнает калретикулин (*calreticulin*) на поверхности клетки-мишени [118, 227].

Фагоцитоз макрофагов сильно зависит от рецепторов, ингибирующих фагоцитоз [273, 274], причем взаимодействие между адекватно экспрессированным рецептором CD47 на клетках-хозяевах (прежде всего эритроцитах) и рецептором SIRP на макрофагах хорошо изучено [232, 233]. Молекулярные детали, посредством которых взаимодействие рецепторов CD47-SIRP замедляет фагоцитоз, подробно рассмотрены в ряде обстоятельных работ [43, 232, 233]. Авторы других исследований подтвердили, что CD47-SIRP-взаимодействие замедляет фагоцитоз при участии рецепторов FcγR<sub>s</sub> и CR<sub>s</sub>, в то время как кальций-зависимый фагоцитоз нечувствителен к SIRP-опосредованному ингибированию [227, 233, 234, 278]. Нормальные циркулирующие эритроциты экспрессируют калретикулин на своей поверхности, при этом взаимодействие рецепторов LRP-1-калретикулина может вызвать фагоцитоз эритроцитов, если восстановлена передача блокирующих сигналов при взаимодействии CD47-SIRP [118, 227]. Профагоцитозная сигнализация во время фагоцитоза, опосредованного ре-

цептором FcγR, или фагоцитоза опсонизированных эритроцитов опосредованного рецептором CR уравновешиваются блокирующим сигналом посредством CD47-SIRP-взаимодействия, следовательно, суммарное взаимодействие этих сигналов детерминирует интенсивность фагоцитоза [234]. Таким образом, относительное количество рецепторов CD47 и IgG или C<sub>3b</sub> на поверхности эритроцита определяет степень FcγR- или CR-опосредованного эритрофагоцитоза. Поэтому вначале было выдвинуто предположение, что восстановленное количество CD47 на стареющих или поврежденных эритроцитах могло быть единственным механизмом, облегчающим эритрофагоцитоз [278]. Однако, несмотря на то что восстановленное количество рецепторов CD47 было действительно найдено на эритроцитах крысы более старой фракции, до сих пор не опубликованы убедительные данные, дающих основание заявить, что эритроциты человека теряют рецептор CD47 в связи со старением при циркуляции в крови [110, 235]. Вместо этого было обнаружено, что рецептор CD47 испытывает при окислительном стрессе конформационные изменения, приводящие к закреплению плазменного белка тромбоспондина 1 на поверхности эритроцита и SIRP-зависимому узнаванию и фагоцитозу эритроцитов селезеночными макрофагами [74].

Ранее было установлено, что стареющие эритроциты предпочтительно узнаются и фагоцитируются макрофагами, расположенными в красной пульпе селезенки [114]. Как описано выше, соответствующие субпопуляции макрофагов оборудованы эффективными клеточными функциями, что позволяет им справляться с разложением значительного количества восстановленного гема и рециркуляции ионов железа [114, 165, 166]. В то время как был показан механизм удаления эритроцитов мышей из кровообращения при помощи макрофагов селезенки [252], крайне мало данных о том, где именно в селезенке человека и какой субпопуляцией фагоцитов узнаются и удаляются эритроциты человека. Однако известно, что крайняя зона селезенки, расположенная между богатой лимфоцитами белой пульпой и красной пульпой, через которую фильтруется кровь, представлена клетками уникального состава, которые, как установлено, выполняют особые иммунологические функции [211].

Так, используя в качестве модели крысу и ионифор Ca<sup>2+</sup>, чтобы вызвать Ca<sup>2+</sup>-зависимый эритроцитоз, A. Larsson et al. [194], недавно обнаружили, что эти поврежденные эритроциты быстро захватывают макрофаги и способные к фагоцитозу дендритные клетки (ДК), расположенные в крайней зоне селезенки с очень небольшим вкладом макрофагов красной пульпы. Причем в крайней зоне селезенки удалось идентифицировать две отдельные CD11c<sup>+</sup> субпопуляции дендритных клеток: одна экспрессирует рецепторы CD8, CD103, CD205 и CD207, а у другой отсутствует экспрессия этих маркерных

антигенов [142, 253]. Кроме того, A. Larsson et al. показали, что дендритные клетки, экспрессирующие CD8<sup>+</sup> и CD207<sup>+</sup>, воспринимали эритрозные эритроциты намного эффективнее, чем клетки, испытывающие недостаток в экспрессии этих маркерных антигенов [194]. Однако удалось выявить, что эта же субпопуляция дендритных клеток, то есть имеющая рецепторы CD8<sup>+</sup> и CD207<sup>+</sup>, захватывала и апоптозные лимфоциты во время их прохода через крайнюю зону селезенки [142]. В отличие от замечаемых макрофагами эритроцитов с рецепторами IgG- или C<sub>3</sub>-опсонизированных эритроцитов, опосредованный дендритными клетками фагоцитоз неопсонизированных эритрозных клеток не замедлялся при взаимодействии рецепторов CD47-SIRP как *in vitro*, так и *in vivo* [194].

Поскольку доказано, что эритрозные клетки узнают те же самые субпопуляции фагоцитов, расположенные в крайней зоне селезенки, а фагоцитоз макрофагами эритрозных клеток *in vitro* требует узнавания фосфатидилсерина на поверхности эритроцита [212], это дает основание предположить, что узнавание и восприимчивость эритрозных клеток могут регулировать механизмы, сходные с механизмом узнавания апоптозных ядродержащих клеток.

В иммунологических исследованиях показано, что CD207<sup>+</sup> — сильный антиген, представляющий фагоцитирующие клетки, которые могут вызвать сильную Т-клеточную иммунную реакцию или быть крайне важными для зависимой от Т-клеток толерантности [41, 257, 274]. Различные субпопуляции дендритных клеток, как полагают ученые, вызывают иммунные реакции, ведущие к толерантности, которая частично определяется генерацией специфичных антигенов Т-регулирующих клеток [41, 274, 292]. Показано, что аутоиммунная гемолитическая анемия развивается в результате усиленной деструкции эритроцитов, вызванной антиэритроцитарными антителами, самостоятельно или в комбинации с активацией комплемента [44]. Следовательно, развитие аутоиммунной гемолитической анемии происходит в результате расстройства толерантности, но механизмы этих нарушений недостаточно ясны. Процесс аутоиммунной гемолитической анемии человека предполагает, что эта болезнь связана с сокращенным количеством регуляторных антиген-специфичных Т-клеток [44]. На модели экспериментальной аутоиммунной гемолитической анемии, где эритроциты крысы использовались при производстве перекрестно реагирующих антител и против эритроцитов и крысы, и мыши, механизмы толерантности обычно предотвращают развитие антител, перекрестно реагирующих с эритроцитами мыши у большинства мышей [175]. Однако в используемой модели сфера действия антикрысиных антител эритроцитов и аутоиммунной гемолитической анемии была увеличена с 30 до 90 % у мышей, исчерпавших антигены Т-регулирующих клеток. Это позволяет предположить, что антигены Т-регулирующих

клеток действительно эффективны в контроле аутоиммунной гемолитической анемии [219]. Индоламин (2,3-диоксигеназа), как установлено, сильно стимулировал функцию толерантности дендритных клеток [132]. Можно также отметить, что индоламин влиял на толерантность и предотвращал гемолитическую болезнь в эритроцитах крысы при индуцибельной аутоиммунной гемолитической анемии [81].

Активация рецепторов CD207<sup>+</sup> дендритных клеток микробными антигенами и индукцией иммуногенности включает сильную обратную экспрессию MHC II класса и ко-стимулирующие молекулы (например, CD40 и CD86), тогда как вызывающая толерантность восприимчивость апоптозных клеток приводит к весьма низкой обратной регуляции этих рецепторов [206]. В настоящее время имеются данные, что дендритные клетки селезенки, которые восприимчивы для эритрозных эритроцитов, имеют сравнительно увеличенную экспрессию CD86, но не CD40 или MHC II класса [212], что предполагает, что восприимчивость дендритных клеток к эритрозным клеткам могла привести к «полузрелому» фенотипу, связанному с восприимчивостью дендритными клетками апоптозных эритроцитов [205]. Уже описана субпопуляция дендритных клеток с рецепторами CD207<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>, экспериментально найденная при фагоцитозе эритрозных клеток у мышей *in vivo*, которая способствует толерантности Т-клеток к аутоантигенам [215, 276]. Требуется, однако, выяснить, каким образом восприимчивость к эритрозным клеткам, поддерживающим толерантность дендритных клеток, необходима, чтобы добиться толерантности к антигенам эритроцитов. Возможная роль такой толерантности для эритрозных эритроцитов также должна быть исследована относительно воспалительных заболеваний, так как клеточное окружение оказывает значительное влияние на фенотип и функции дендритных клеток и других иммуноцитов [41, 292]. Поэтому дальнейшие иммунологические исследования в этой области могли бы дать весьма показательные данные для лучшего понимания механизмов расстройства толерантности и развития аутоиммунной гемолитической анемии, а также способствовать разработке новых способов поддержания толерантности к антигенам эритроцитов эритроцитсодержащих компонентов, используемых в трансфузиологии.

## 7. Патфизиологические особенности эритроза: роль в лекарственной терапии

В ходе многочисленных биохимических и иммунобиологических исследований установлено, что генетические дефекты синтеза гемоглобина сопровождаются различными патологиями человека: серповидно-клеточной анемией и β-талассемией, дефектами отдельных ферментов метаболизма эритроцитов, например дефицитом глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы, или носителей, таких как анионит 1, связанных с повышенной уязвимостью эритроцитов

к стимуляторам эритропоэза [64, 247]. Ретроспективный генетический анализ показал, что в некоторых случаях у членов семьи с повышенным эритропоэзом, была зарегистрирована мутация GLUT1, сопровождающаяся превращением переносчика глюкозы в кальций-проницаемый катионный канал [299]. Необходимо отметить, что увеличенный эритропоэз наблюдается также при ряде общих заболеваний (табл. 2).

Эритропоэз, вызываемый гипертермией, очень чувствителен к изменениям температуры. В настоящее время доказано, что избыточный эритропоэз наблюдается при дефиците железа, патологическом мочеиспускании, почечной недостаточности, сепсисе и гемолитическом уремическом синдроме. Анализируемые до сих пор гемолитические нарушения также сопровождаются избыточным эритропоэзом. Рассмотрим подробнее механизмы взаимосвязи эритропоэза с отдельными заболеваниями человека.

**7.1. Эритропоэз предотвращает преждевременный гемолиз эритроцитов.** Физиологически эритропоэз в качестве первоочередной задачи, как упоминалось выше, сокращает преждевременный гемолиз травмированных эритроцитов и таким образом предотвращает осложнения, вызываемые повышенным содержанием гемоглобина в кровеносном русле [115], что, в свою очередь, приводит к нарушению функционирования почки и может способствовать осаждению кальция и вызвать окклюзию почечных канальцев [180, 185].

Кроме того, есть убедительное доказательство, что эритропоэз может служить важным защитным механизмом против гемолиза, вызываемого малярией [68, 99] а также при серповидно-клеточной анемии [154]. При малярии усиленный эритропоэз вызывает при кровообращении ускоренный клиренс эритроцитов, зараженных патогенным плазмоди-

■ Таблица 2. Механизмы инициации эритропоэза и заболевания, связанные с повышенным эритропоэзом

Механизм, иницирующий эритропоэз	Заболевание	Источник
Увеличение внутриклеточной концентрации свободного Ca <sup>2+</sup>	Гемолитическая анемия	45, 283, 291
	Аутоиммунная гемолитическая анемия	49, 219
	Гемолитический уремический синдром	191
	Железодефицитная анемия	129, 158, 220
	Малярия	62, 68, 298
	Почечная недостаточность	217
	Сердечная недостаточность	208
	Болезнь Паркинсона	244
Образование церамида	Болезнь Вилсона	185
	Гемолитическая анемия	45, 283
	Гемолитический уремический синдром	191
	Сепсис	156
	Токсическое действие свинца	23
Дополнительные механизмы (окислительный стресс, энергетическое истощение клеток, токсические вещества)	Гемолитическая анемия	45
	Диабет второго типа	70, 207
	Малярия	62, 270, 273
	Миелодиспластический синдром	48
	Микоплазменная инфекция	93
	Наследственный сфероцитоз	47
	Неоцитоз	258, 259
	Пароксизмальная ночная гемоглобинурия	48
	Почечная недостаточность	217
	Сердечная недостаточность	208
	Серповидноклеточная анемия (мутация в гене <i>HBB</i> )	149, 154, 155
	α- и β-талассемия (мутации в генах <i>HBB1(2)</i> или в гене <i>HBB</i> )	155, 188
	Истощение фосфатов	54
	Токсическое действие свинца	23, 32
	Токсическое действие ванадия	109
	Угнетающее действие зополрестата	72
	Угнетающее действие нитратов	123



ем [138]. Перестройка эритроцитов, необходимая для плазмодия, увеличивается окислительным стрессом, который модулирует деятельность множества ионных каналов, важных для внутриклеточного выживания этого патогена [90, 140]. В таких эритроцитах увеличенная активация каналов, проницаемых для  $\text{Ca}^{2+}$ , способствует эриптозу и приводит к фагоцитозу не только клеток хозяина, но и патогена [99]. Действительно, эксперименты на животных показали, что целый ряд фармакологических агентов, модулирующих эриптоз, оказывает благоприятное воздействие на клинический курс лечения малярии [150]. Увеличенный эриптоз также зарегистрирован при повышении устойчивости к малярии, наблюдаемой при дефиците глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы,  $\beta$ -талассемии и серповидно-клеточной анемии [190].

**7.2. Эриптоз и нецитозис.** Эриптоз — эффективный механизм удаления чрезмерного количества эритроцитов из кровообращения. Установлено, что хорошо регистрируемое экспонирование фосфатидилсерина у эритроцитов наблюдается при истинной полицитемии [113], причем это явление сопутствует срыву вредных последствий увеличенных уровней гематокрита, а также высоким рискам сердечно-сосудистых тромбозов [279]. Увеличение гибели молодых эритроцитов (нецитов) у альпинистов, людей высокогорья и космонавтов было зарегистрировано как особое явление, которое назвали нецитозисом [259]. Согласно исследованиям *in vitro*, нециты оказались более чувствительными к присутствию сигналов выживания, таких как высокие уровни эритропоэтина в плазме, по сравнению с другими подтипами эритроцитов. Этот эффект может способствовать быстрому выводу из кровообращения нецитов *in vivo*. Есть ли у нецитозиса молодых эритроцитов механизм цитолиза, перекрывающийся с эриптозом, остается пока неустановленным [258].

**7.3. Эриптоз как элемент патогенеза анемии.** Самая важная патология эритроцитов — анемия, определяемая как условие концентрации гемоглобина, гематокрита или индексов эритроцита ниже двух среднеквадратичных отклонений от возрастных средств. С клинической точки зрения анемия классифицируется по трем патофизиологическим этиологиям: 1) уменьшенное производство эритроцитов при эритропоэзе, 2) потеря крови, 3) увеличенная деструкция эритроцитов в периферийном кровообращении. Последняя категория (то есть капиллярное кровообращение) прежде всего охватывает плохо регистрируемый гемолиз [83, 144, 167, 213].

Эриптозные клетки быстро удаляются из кровообращения путем их захвата и поглощения макрофагами. Пока увеличенный эриптоз компенсирует подобный уровень эритропоэза, число эритроцитов в циркулирующей крови может оставаться постоянным [180, 184, 186]. Поскольку генерация новых эритроцитов происходит вследствие появления ре-

тикулоцитов в периферической крови, увеличенный ретикулоцитоз может свидетельствовать о присутствии ускоренного эриптоза даже при нормальных индексах циркулирующих эритроцитов в сосудах. Однако если физиологический эритропоэз не в состоянии уравновесить ускоренную потерю эритроцитов вследствие эриптоза, может последовать клинически регистрируемая анемия [180, 184, 186].

В прошедшем десятилетии клинические исследования на популяциях людей разных рас, так же как при моделировании болезней в экспериментальных условиях привели к более глубокому пониманию системных условий [291], связанных с анемией. Однако перечень этих условий может быть усложнен, если принять во внимание религиозные предрассудки и особенности ускоренного эриптоза.

**7.4. Расстройство капиллярного кровообращения и противосвертывающий феномен эриптоза.** В опубликованных ранее работах приводятся доказательства, подтверждающие наличие у эриптозных эритроцитах повышенной склонности к адгезии к эндотелиальным клеткам, подобно тромбоцитам, которые потенциально могут препятствовать капиллярному кровообращению из-за способности к тромбозу вследствие особенностей фенотипа [19, 67, 293]. Эриптозные эритроциты, подвергающиеся действию ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на их мембранах, могут взаимодействовать с поверхностными рецепторами на эндотелиальных клетках и тромбоцитах, таких как трансмембранный лиганд СХС хемокина CXCL16, известного как CXCL16/SR-PSOX [67]. Хемокин CXCL16 в связанной форме в эндотелиальных клетках служит фагоцитарным рецептором со сродством к фосфатидилсерину, так же как окисленные, имеющие малую плотность липопротеины [136]. Эндотелиальный CXCL16, как установлено, крайне важен для прилипания лейкоцитов в процессе циркуляции, он же способствует прилипанию моноцита к эндотелию сосудов в местах атеросклеротических повреждений [266]. Увеличенное прилипание эриптозных эритроцитов может сопутствовать параллельным изменениям в атеросклеротических повреждениях и способствовать тромбозным сосудистым осложнениям [293]. Кроме того, показано, что в процесс прилипания эритроцитов к эндотелиальным клеткам могут быть включены дополнительные молекулы, такие как эндотелиальный CD36 и тромбоспондин [294]. Также независимое от фосфатидилсерина прилипание эритроцитов может происходить через взаимодействие между ICAM-4 и эндотелиальными интегринами  $\alpha_p\beta_3$  [133] и ламинином  $\alpha_5$  [297]. Участвуют ли фосфатидилсерин-зависимые взаимодействия в прилипании эриптозных эритроцитов к эндотелиальным клеткам? Для окончательного ответа требуются дальнейшие исследования.

Тромбоциты, как и эндотелиальные клетки, также экспрессируют CXCL16, по которому выявляется их активация, то есть переводят сосудистое воспаление на тромбо-связанные события при

различных болезнях [39, 293]. Тромбоциты, как известно, экспрессируют и рецептор CD36 [38], как ранее мы упоминали, он взаимодействует с фосфатидилсеринем [192, 223]. Эксперимент продемонстрировал, что экспонирование фосфатидилсерина эритроцитами приводит к взаимодействию с рецепторами тромбоцитов CXCL16 и CD36 и, следовательно, показывает увеличенную адгезию остановленным тромбоцитам в процессе циркуляции [293]. Это взаимодействие может усилить ускоренное формирование тромба при условии гиперсвертываемости, связанной с различными клиническими расстройствами, например печеночной недостаточностью [303] и хронической болезнью почек [117, 304]. Интересно, что при моделировании вызванного хлорным железом тромбоза эритроциты способствуют доставке тромбоцитов к месту повреждения [46]. Таким образом, эти исследования подтверждают тезис о том, что эритроциты активно способствуют патофизиологии тромбоза. Однако вклад эритроцитов, в противоположность здоровым эритроцитам, в формирование тромба требует дальнейших доказательств.

Растущий объем данных предполагает, что эритроциты, вследствие их биохимических и биофизических свойств, могут активно способствовать патофизиологии гиперсвертываемости при различных клинических условиях [29]. Экспонирование фосфатидилсерина на клеточной мембране эритроцита служит платформой для сборки протромбиназы и комплексных соединений теназы, они, в свою очередь, стимулируют генерацию тромбина и свертывание и таким образом проявляют особые свертывающие эффекты эритроцитов [250]. Экспонирование фосфатидилсерина может также стимулировать факторы свертывания крови V и X, что, как известно, вызывает гиперкоагуляцию [265, 311]. Было продемонстрировано, что увеличенное экспонирование фосфатидилсерина на поверхности эритроцита способствует внутрисосудистой коагуляции при уремии [191], сепсисе, вызванном *Pseudomonas aeruginosa* [250], β-талассемии [40, 77] и интоксикации свинцом [32]. Микрочастицы, полученные из различных клеток, включая эритроциты, продемонстрировали дополнительный свертывающий эпигот на поверхности фосфолипида за счет сборки свертывающих комплексных соединений фермента и генерации тромбина [39, 121]. Кроме того, недавно было установлено, что активный выпуск микропузырьков в процессе эритроцитоза при усиленном внутриклеточном поступлении ионов  $Ca^{2+}$  и активации РЭС может вызвать перекрытие механизмов, диктующих микровезикуляцию мембраны эритроцита и эритроцитоз [225].

**7.5. Эритроцитоз при хронической почечной недостаточности.** Известно, что хроническая болезнь почек (ХБП) сопровождается анемией и в значительной степени связана с ослабленным выпуском из почек эритропоэтина [200]. Анемия у пациентов ХБП может впоследствии вызывать дефицит железа [69].

Более современные данные, однако, свидетельствуют, что увеличенный эритроцитоз эритроцитов у пациентов с ХБП способствует восстановлению продолжительности жизни эритроцитов при кровообращении [24, 55, 176]. Согласно исследованиям *in vitro*, уремические токсины, такие как ванадат [109], метилглиоксаль [226], акролеин [22] и сульфат индоксила [117], модифицируют эритроцитоз. Кроме того, смерть эритроцитов (эритроцитоз) при ХБП сопровождается высокими плазменными концентрациями фосфора [290]. Однако терапевтические вмешательства (например, гемодиализ) не оказывали влияния на течение эритроцитоза, но удаляли при этом эритроциты, уязвимые для некроза [55]. С точки зрения механики кровообращения, эритроциты пациентов ХБП усиленно накапливали АФК [24] и уменьшали уровень глутаминил-цистеинил-глицина [119], который, как установлено, может способствовать усиленному эритроцитозу. Поскольку эритропоэтин при эритроцитозе замедляет неспецифические катионные каналы [217], применение эритропоэтина для пациентов ХБП может не только стимулировать эритроцитоз, но и усилить выживание эритроцитов, противодействуя тем самым преждевременному старению эритроцитов.

#### **7.6. Эритроцитоз при печеночной недостаточности.**

Нарушение функций печени и фиброз обычно связаны с различной степенью анемии, которая может развиваться из-за многих связанных друг с другом условий, таких как геморрагические кровоизлияния, злокачественность, вирусные инфекции, хроническое воспаление и дефицит эфирных питательных веществ, включая витамин  $B_{12}$  и фолат [180, 209]. Анемия при отказе печени может быть вызвана ускоренной запрограммированной смертью эритроцитов, которую связывают с высоким уровнем билирубина [176]. Повышенный уровень связанного билирубина в крови увеличивает формирование церамида и активности цитозольного кальция, которые, в свою очередь, приводят к увеличенному экспонированию фосфатидилсерина с последующим выводом из кровотока циркулирующих эритроцитов. В ходе натуральных экспериментов на желчном протоке мышей через три недели после операции в эритроцитах мышей было зарегистрировано уменьшение индекса эритроцитов, гематокрита и понижение уровня гемоглобина — эти изменения сопоставимы с увеличенным клиренсом эритроцитов [176]. В других работах показано, что повышенные плазменные уровни гликохандезоксихолевой и таурохандезоксихолевой желчных кислот при холестазах сопровождаются гемолизом, так же как увеличением внутриклеточной концентрации ионов  $Ca^{2+}$ , формированием церамида и экспонированием фосфатидилсерина на мембране эритроцитов [178, 303]. Таким образом, одномоментное действие нескольких факторов [185] при заболеваниях печени может способствовать анемии и сокращенной продолжительности жизни циркулирующих эритроцитов.

Эриптоз зарегистрирован как фактор, играющий важную роль в патофизиологии анемии при болезни Вилсона, — генетическом отклонении, при котором происходит накопление в клетках ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , приводящих к циррозу печени [193]. Проявление эриптоза при этом условии продемонстрировано повышенным содержанием сфингомиелиназы в плазме и формированием керамидов не только в эритроцитах, но и в гепатоцитах [193]. Фармакологическое ингибирование или генетический дефицит сфингомиелиназы позволили уменьшить эриптоз и продлить жизнь крыс, склонных к болезни Вилсона. Примечательно, что  $\text{Cu}^{2+}$ -зависимые окислители, вызывающие повреждение клеток при болезни Вилсона, могут способствовать, по крайней мере частично, восстановлению показателей выживаемости эритроцитов [193].

**7.7. Эриптоз при сепсисе.** Сепсис — потенциально опасное для жизни человека состояние, вызванное обширным многофакторным ответом на инфекцию [262]. При этом у пациентов с тяжелым сепсисом наблюдается выраженная анемия [25]. Имеются убедительные доказательства, что связанная с сепсисом анемия может следовать за усиленным эриптозом эритроцитов [156]. Повышенный уровень эриптоза при сепсисе может быть вызван поступающими в кровоток бактериальными токсинами. Они состоят из пептидогликанов, гемолизинов, пиоцианинов и листериолизинов [98, 107, 250, 286]. Эриптоз при сепсисе сопровождается усиленным формированием эритроцитами керамида и повышением активности внутриклеточных ионов  $\text{Ca}^{2+}$  [156, 250]. В эксперименте показано, что фактор токсичности пиоцианина усиливается благодаря накоплению АФК в эритроцитах крысы и сопровождается ускоренным клиренсом эритроцитов при циркуляции [250]. Примечательно, что бактериальные пептидогликаны способствуют прилипанию эриптозных эритроцитов к стенке сосудов за счет молекулы CXCL16/SR-PSOX [19, 67]. В модельном эксперименте показано, что усиленный эриптоз, связанный с сепсисом, может ухудшать микроциркуляцию периферической крови [137].

**7.8. Эриптоз эритроцитов при канцерогенезе.** С анемией обычно сталкиваются на различных стадиях канцерогенеза, она может возникнуть вследствие потери крови при оперативном вмешательстве, ослабленном эритропоэзе из-за уменьшенного образования эритропоэтина, снижении эффективности эритропоэтина, дефиците питательных веществ [60, 120, 122]. В недавнем обзоре взаимосвязи анемии и эриптоза отмечено, что при анемии больных раком легких этот процесс может быть сравним с увеличением в эритроцитах активности цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$ , генерации керамида, образования АФК и экспонирования фосфатидилсерина [60, 120, 195]. Кроме того, в патогенезе злокачественных новообразований анемии могут вызывать неблагоприятные эффекты после применения цитостатиков [180]. Многочисленные исследования

*in vitro* и *in vivo* показали, что применение многих химиотерапевтических агентов, включая клофазимин, митоксантрон, блебистатин, руксолитиниб, оксалоплатину, топотекан, регорафениб, оридонин, пицетанол и бипазопаниб, вызывают эриптоз и могут, таким образом, усилить анемию у раковых больных [35, 57, 73, 92, 147, 182, 230, 268, 269, 309].

В эксперименте показано, что мутации гена, связанные с нарушением функции *Adenomatous Polyposis Coli* (APC), приводят к многочисленным аденоматозным полипам в толстом кишечнике, что, в конечном счете, становится причиной карциномы ободочной кишки [162]. Мыши, несущие дефектный ген APC, чаще страдают от кишечных опухолей, сравнимых с тяжелой анемией [135, 199]. Вообще принято считать, что анемия у таких мышей развивается в результате кишечных кровоизлияний, а эритроциты этих мышей проявляют повышенную уязвимость для эриптоза [252]. Установлено, что у таких мышей наблюдается увеличенный клиренс эритроцитов, способствующий возникновению серьезной спленомегалии [252]. Авторы исследования обсуждают механизмы, приводящие к усилению эриптоза, но, очевидно, не включают в их число увеличенную активность внутриклеточных ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , так как эритроциты от APC-дефектных мышей восстанавливали уровни АТФ, что указывает на эриптоз эритроцитов, чувствительный к энергетической неустойчивости [252].

При миелодиспластическом синдроме (МДС) является клоновая неупорядоченность, характеризующаяся цитопенией с последующим развитием неэффективного гемопоэза и появлением поврежденных эритроцитов, которая усиливается окислительным стрессом и экспонированием фосфатидилсерина [275]. В отличие от эритроцитов здоровых людей, экспонирование фосфатидилсерина на мембране эритроцитов от пациентов МДС происходит преимущественно у молодых из-за преобладания фракции легких эритроцитов [48, 275]. Примечательно, что у молодых эритроцитов от пациентов с МДС, как установлено, увеличивалось появление гликофорина на поверхности клеток, которое может маскировать усиленное экспонирование фосфатидилсерина и таким образом противодействовать преждевременному фагоцитозу [48]. Стимулируемый эриптоз может участвовать в патофизиологии хронической анемии, развивающейся при синдроме МДС. Особенно часто МДС усложняется повышением тромбообразования. Поэтому можно предположить, что увеличенный эриптоз эритроцитов при МДС способствует повышению риска развития тромбозов [171].

**7.9. Эриптоз при сердечной недостаточности, ожирении, диабете.** Известно, что анемия распространена при сердечной недостаточности и может отрицательно воздействовать на исход болезни [282]. Патогенез анемии в таком случае может включать воспаление, ослабление почечной функции и дефицит железа [220, 291]. Последние исследова-

ния указывают на увеличенный эриптоз как основной механизм анемии, связанной с сердечной недостаточностью [20]. У пациентов, страдающих от остановки сердца, обнаружили повышенное количество эритроцитов с экспонированием фосфатидилсерина и уменьшенным объемом клетки [10, 20]. Кроме того, эритроциты этих пациентов показали увеличенную генерацию АФК, что может способствовать увеличенному эриптозу [20]. Примечательно, что повышенный (не увеличенный) окислительный стресс — особенность патологии остановки сердца [58, 221] — может вызвать повреждение эритроцитов и эриптоз.

Тяжелая форма ожирения связана с повышенным риском тромбозов [61]. Точные механизмы этой связи пока полностью не выяснены. Увеличенная агрегация эритроцитов и уменьшенная способность подвергаться деформации эритроцитов пациентов с ожирением, как полагают, вызывают не только реологические нарушения крови, но и гиперсвертываемость [271]. В предыдущих исследованиях этих авторов экспонирование фосфатидилсерина на эритроцитах было значительно выше у пациентов с более высоким индексом массы тела по сравнению со здоровыми людьми, что дает основания предполагать, что эриптоз может участвовать в гиперсвертываемости, связанной с ожирением [272]. Кроме того, показатель маркерного антигена CD47 старения эритроцита был достаточно высоким у пациентов с ожирением [301, 302]. Поразительно, что дисфункцию эритроцита и мембранную трансформацию фосфатидилсерина продемонстрировали и мыши, в течение длительного периода питавшиеся пищей с высоким содержанием жира [282]. Это исследование показало увеличенную селезеночную восприимчивость к промаркированным эритроцитам, полученных от мышей, которых кормили пищей с высоким содержанием жира, по сравнению с мышами, находившимися на сбалансированной диете [282]. У мышей, находившихся на диете с повышенным содержанием жира, зарегистрировали эндотелиальную дисфункцию вместе с увеличенным прилипанием макрофагов к эндотелиальным клеткам [282], что подчеркивает важность патологической связи между эритроцитом и эндотелиальной дисфункцией, а также активацией макрофагов при ожирении.

У пациентов с диабетом было зарегистрировано повышенное количество (в процентном соотношении) эритроцитов с экспонированным фосфатидилсеринном при кровообращении [180]. Недавно показано, что определение маркеров эриптоза может служить важным диагностическим признаком для больных диабетом 2-го типа [159]. Эриптозный фенотип связан, по крайней мере частично, с наличием в плазме увеличенной концентрации дикарбонильного соединения метилглиоксаля, побочного продукта гликолиза. Исследования *in vitro* показали, что обработка клеток метилглиоксалем снижает содержание цитозольного АТФ в эритроците и концентрацию глутаминил-цистеинил-глицина, но не вызывает

увеличения внутриклеточных ионов  $Ca^{2+}$  [226]. При сердечно-сосудистых осложнениях диабета отмечена положительная корреляция со снижением антиоксидантной защиты [70, 241, 242, 272]. У эритроцитов от пациентов с диабетом регистрируют увеличенную активность перекиси дисмутаза и образования АФК [218] — факторов, которые способствуют трансформации фосфолипида клеточной мембраны эритроцита. Кроме того, глутатион-индуцированное ускоренное старение эритроцитов, вызванное высокими внеклеточными концентрациями глюкозы в эксперименте *in vitro*, сопровождается увеличением содержания внутриклеточных ионов  $Ca^{2+}$  и повышенной активностью катионного канала, это позволяет предположить, что гипергликемия оказывает существенное влияние на продолжительность жизни эритроцита [170]. Однако  $Ca^{2+}$ -независимые механизмы, например активация каспазы 3, также могут участвовать в проявлении дисфункции эритроцитов при диабете [207].

Известно, что железо является обязательным элементом для синтеза гемоглобина, его дефицит — одно из наиболее распространенных нарушений рациона [254]. Следовательно, пищевой дисбаланс также может влиять на продолжительность жизни эритроцита. Так, в модельном эксперименте у мышей с дефицитом железа в эритроцитах зарегистрировали увеличенное экспонирование фосфатидилсерина, уменьшение объема клетки и усиление активности внутриклеточных ионов  $Ca^{2+}$  [158]. Показано, что железodefицитная анемия связана с увеличенным экспонированием фосфатидилсерина эритроцитов при окислительном стрессе [220]. Следовательно, окислительный стресс может быть фактором, способствующим восстановлению продолжительности жизни эритроцита при дефиците железа. Кроме того, недостаток витамина D также может оказывать влияние на выживание эритроцита. В эритроцитах мышей, получавших пищу, богатую витамином D, регистрировали усиление чувствительности к эриптозу после экспонирования их к осмотическому шоку и энергетическому истощению [175]. Примечательно, что в крови мышей, получавших в рационе витамин D, обнаружили уменьшение индексов ретикулоцитов, так же как восстановленное производство эритропоэтина [175]. Эти факты дают основание предположить, с другой стороны, что чрезмерное потребление витамина D сенсibiliзирует эритроциты к эриптозу, вызванному стрессорами клетки. С другой стороны, дополнение пищи витамином С повышало защиту от увеличенного окислительного стресса и эриптоза при дефиците глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы [267]. Следовательно, можно согласиться с мнением авторов этих работ, что рацион питания человека влияет на продолжительность жизни эритроцита и его функции.

**7. 10. Эриптоз при хронических воспалительных заболеваниях.** В ходе эпидемиологических исследований установлено, что воспаление — одна

из наиболее распространенных причин анемии у пожилых и имеющих хронические заболевания людей. Анемия при воспалительных заболеваниях развивается в значительной степени из-за ослабленного гомеостаза железа и подавления эритропоэза провоспалительными цитокинами [111]. Провоспалительные цитокины, как показали недавние исследования, вызывали изменения мембраны эритроцита, напоминая эриптоз [53]. Установлено также, что при воспалительных заболеваниях нарушается ряд функций эритроцитов, что приводит их к эриптозу [240].

Артрит — воспалительное заболевание стенки сосудов — вызывает сосудистую окклюзию и сопровождается анемией [127]. Недавнее исследование продемонстрировало, что анемия у пациентов с артритом должна, по крайней мере частично, вызывать усиленный эриптоз [58]. Увеличенный эриптоз сравним с усиленным окислительным стрессом и повышенным показателем внутриклеточных ионов  $Ca^{2+}$  [56]. Заманчиво предположить, что увеличенное прилипание эриптозных эритроцитов к клеткам эндотелия сосудов может способствовать патофизиологии сосудистой окклюзии и ишемии у пациентов с артритом.

Анемия характерна приблизительно для 50 % пациентов с аутоиммунным заболеванием — системной красной волчанкой (СКВ) [126]. Анемия при СКВ имеет многофакторную этиологию и может быть вызвана аутоиммунной деструкцией эритроцитов. Кроме того, определена субпопуляция пациентов СКВ, имеющая антитела против эритропоэтина, которые смягчают нормальное производство эритроцитов [126]. Анемия в СКВ может быть также вызвана уменьшенной продолжительностью жизни эритроцита, поскольку значительно большее число циркулирующих эритроцитов имеют фосфатидилсерин на мембранах [126]. Кроме того, у больных СКВ отмечается увеличенный ретикулоцитоз и обратная регуляция активности внутриклеточных ионов  $Ca^{2+}$  и образования АФК [126]. Увеличенный эриптоз является, таким образом, элементом патофизиологии анемии при СКВ [145].

**7.11. Эриптоз при гемолитическом уремическом синдроме.** Гемолитический уремический синдром (ГУС) проявляется как осложнение после выброса бактериального токсина, который впоследствии вызывает гемолитическую анемию, тромбоцитопению и острое повреждение почки [89]. Нехватка инактивирующего фактора *H* была предложена в качестве механизма, лежащего в основе развития ГУС [89]. При инкубации эритроцитов в экспериментах *in vitro* в плазме ГУС, лишенной фактора *H*, чтобы показать активацию комплемента для выявления экспонирования фосфатидилсерина, увеличения активности цитозольного  $Ca^{2+}$ , формирования церамида и уменьшения объема клетки, что позволяет предположить, что потеря целостности клеточной мембраны эритроцитов и гемолиз у больных ГУС

сопровождается усиленным эриптозом [191]. Таким образом, даже вне чрезмерного гемолиза увеличенный эриптоз может способствовать функциональной патологии эритроцитов и усилению анемии у пациентов с ГУС.

**7.12. Эриптоз эритроцитов у пожилых людей.** Распространенность анемии среди пожилых людей увеличивается с возрастом и составляет 50 % от общей популяции людей старше 80 лет [36, 131]. В большинстве случаев присутствие у людей пожилого возраста иных факторов может путать этиологию анемии. Так, недавно сообщили, что содержание подвергнутых действию фосфатидилсерина эритроцитов значительно выше у пожилых людей и коррелирует с увеличенным окислительным стрессом [204]. Однако увеличенный эриптоз у пожилых несопоставим с увеличенной активностью внутриклеточных ионов  $Ca^{2+}$  и образованием церамида [204]. Примечательно, что об увеличенном эриптозе сообщили при исследовании мышей, дефектных по белку Клото, известному мембранному белку молодости, который вырабатывается в сальниках парашитовидной железы, почке и сплетении сосудистой оболочки [157]. Дефектные по белку Клото мыши использовались в качестве экспериментальной модели для изучения ускоренного старения животных [157]. Эритроциты этих мышей демонстрируют явную чувствительность к эриптозу, вызванному энергетическим истощением и окислительным стрессом. У этих мышей также регистрируется ускоренная циркуляция эритроцитов. Дефицит белка Клото на эритроцитах можно было частично нивелировать диетой, богатой витамином D [157]. Кроме того, эритроциты мышей с мутацией по митохондриальной ДНК (прогероидной моделью) демонстрируют aberrантное поглощение железа и окислительный стресс, так же как блокирование выброса митохондрий во время эритропоэза, приводящее клетки к преждевременной смерти [21]. Таким образом, убедительные данные многочисленных исследований на человеке и на на экспериментальных животных подтверждают, что эриптоз, по крайней мере частично, способствует развитию анемии, связанной со старением.

**7.13. Эриптоз эритроцитов и трансфузиология.** В публикациях последних лет была продемонстрирована корреляция между экспозицией фосфатидилсерина, физиологическими особенностями донора и параметрами качества эритроцитсодержащих компонентов крови, указывающих на то, что экспозиция фосфатидилсерина может быть биологически значимым параметром качества компонентов [65, 70, 85, 249]. Эти данные подчеркивают необходимость изучения механизмов, стимулирующих экстернализацию фосфатидилсерина на эритроцитах при их циркуляции в крови. Знания об этом могут способствовать разработке методов улучшения выживаемости эритроцитов при хранении и после переливания крови, а также целевому выбору эритроцитных взвесей или концентратов

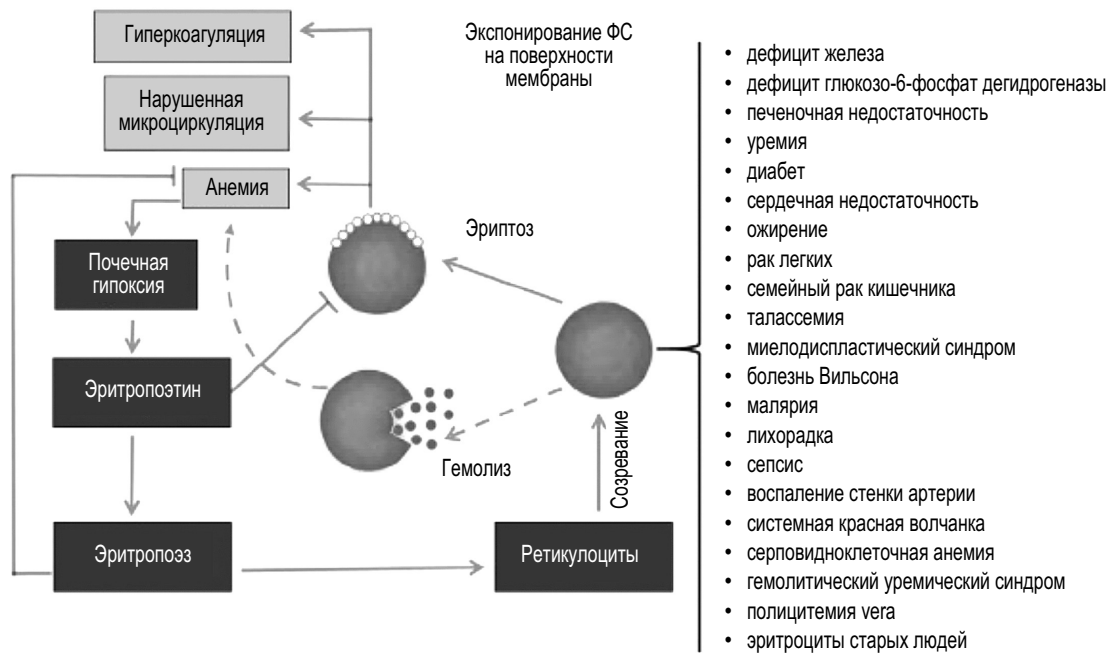


Рис. 7. Обобщенная схема взаимосвязи эриптоза и анемии с болезнями человека

эритроцитов и даже доноров для конкретных групп пациентов. В отдельных работах было высказано предположение, что эритроцит-содержащие компоненты крови с высоким содержанием гемоглобина следует переливать вместе с большим объемом крови [238]. Причем целесообразно подбирать компоненты с наименьшей экстернализацией фосфатидилсерина для пациентов с многократными переливаниями и для больных с выраженной анемией или удалить эритроциты, которые восприимчивы к стресс-индуцированному воздействию. Это было бы полезно, особенно для пациентов с многократными переливаниями, так как сокращение числа быстро удаляемых поврежденных эритроцитов привело бы к повышению эффективности переливания и значительному снижению скорости накопления железа и патологической активации иммунной системы больного [210, 306].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эриптоз (мембраносвязанный апоптоз) — фундаментальный процесс клеточной смерти эритроцитов, который, подобно апоптозу ядросодержащих клеток, характеризуется определенными морфологическими изменениями, включая сокращение объема клетки, везикуляцию мембраны и расстройство мембранной асимметрии фосфолипидов, приводящие к экспонированию фосфатидилсерина — основного рецептора для фагоцитов. Физиологически эриптоз предназначен для быстрого устранения травмированных и поврежденных эритроцитов, чтобы предотвратить их преждевременный гемолиз в сосудистом русле и накопление внеклеточного гемоглобина в циркулирующей крови.

Чрезмерный эриптоз связан с рядом болезненных состояний человека, включая сахарный диабет, печеночную недостаточность, уремию, гемолитический уремический синдром, сердечную недостаточность, рак, сепсис и хроническое воспаление (рис. 7).

Эриптоз вызывается различными патофизиологическими стрессорами клетки и организован сложной машиной, включающей ионные каналы, мембранные белки и клеточные ферменты (см. рис. 1 и 2). Фагоциты (макрофаги и дендритные клетки) узнают и поглощают эриптозные эритроциты, они подвергаются разложению в ретикулоэндотелиальной системе. Этот процесс включает точно определенную, пока еще не вполне понятную молекулярную перекрестную связь между эритроцитами и фагоцитирующими клетками (см. рис. 6). Необходимы дополнительные экспериментальные усилия для получения точных ответов и понимания действия ключевых эпитопов сигнальных молекул и путей, регулирующих эриптозную машину. Кроме того, несмотря на уже достигнутые определенные успехи, все еще остается много неизвестного относительно способности эриптозных эритроцитов модулировать клетки врожденной и адаптивной иммунной системы и их способности воздействовать на аутоиммунные механизмы человека и механизм толерантности. Наконец, очень важно, чтобы будущие исследования позволили точно установить, являются ли методы лечения, основанные на механизме эриптоза и направленные на противодействие ему, действенной стратегией для преодоления анемии, расстройства микроциркуляции и предотвращения тромбозов, которые, как уже установлено, связаны с различными заболеваниями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агалакова Н.И. Нарушение ионного баланса как фактор физиологического старения эритроцитов // Вопросы современной науки / Под ред. Н.Р. Красовской. – М.: Интернаука, 2016. – Т. 15. – С. 133–149. [Agalakova NI. Narushenie ionnogo balansa kak faktor fiziologicheskogo stareniya eritrotsitov. In: Voprosy sovremennoy nauki. Ed. by N.P. Krasovskaja. Moscow: Internauka; 2016. Vol. 15. Pp. 133–149. (In Russ.)]
2. Белевич Е.И., Костин Д.Г., Слобожанина Е.И. Эритроцитоз — запрограммированная гибель эритроцитов // Успехи современной биологии. – 2014. – Т. 134. – № 2. – С. 149–157. [Bialevich EI, Kostsin DG, Slobozhanina EI. Eryptosis is programmed death of erythrocytes. *Advances in modern biology*. 2014;134(2):149-157. (In Russ.)]
3. Вересов В.Г. Структурная биология апоптоза. – Минск: Белорусская наука, 2008. – 431 с. [Veresov VG. Strukturnaya biologiya apoptoza. Minsk: Belorusskaja nauka; 2008. 431 p. (In Russ.)]
4. Ващенко В.И., Ващенко Т.Н. Биология и физиология протеина С. Современные представления о механизмах лечебного действия активированного протеина С // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2009. – Т. 7. – № 3. – С. 24–47. [Vashchenko VI, Vashchenko TN. Biology and physiology of protein C. Modern presentations about mechanisms of medical action of the activated protein C. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2009;7(3):24-47. (In Russ.)]
5. Ващенко В.И., Хансон К.П., Шабанов П.Д. Цитохром С и лекарственная терапия: прошлое, настоящее, будущее // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2005. – Т. 4. – № 1. – С. 27–37. [Vashchenko VI, Hanson KP, Shabanov PD. Tsitokhrom S i lekarstvennaya terapiya: proshloe, nastoyashchee, budushchee // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2005;4(1):27-37. (In Russ.)]
6. Владимиров Ю.А. Биомембраны. Строение, свойства, функции // Биологические мембраны: журнал мембранной и клеточной биологии. – 2002. – Т. 19. – № 5. – С. 355. [Vladimirov YuA. Biomembrane. Structure, properties, and functions. *Biologicheskie membrany*. 2002;19(5):355. (In Russ.)]
7. Журавлева Т.Д., Долгов В.В., Суплотов С.Н., Киянюк Н.С. Особенности липидного состава мембран эритроцитов у здоровых людей разного возраста // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – № 5. – С. 50–52. [Zhuravleva TD, Dolgov VV, Suplotov SN, Kiyanyuk NS. Specific features of the lipid composition of the erythrocyte membranes in healthy people of different ages. *Klin Lab Diagn*. 2003;(5):50-52. (In Russ.)]
8. Карпунин Д.В., Акимов С.А., Фролов В.А. Формирование пор в плоских липидных мембранах, содержащих лизолипиды и холестерин // Биологические мембраны: журнал мембранной и клеточной биологии. – 2005. – Т. 22. – № 5. – С. 429–432. [Karpunin DV, Akimov SA, Frolov VA. Pore formation in lipid membranes containing lysolipids and cholesterol. *Biologicheskie membrany*. 2005;22(5):429-432. (In Russ.)]
9. Миндукшев И.В., Рукояткина Н.И., Добрылко И.А., и др. Особенности апоптоза безъядерных клеток: тромбоцитов и эритроцитов человека // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – Т. 99. – № 1. – С. 92–110. [Mindukhev IV, Rucsojatkina NI, Dobrilko IA, et al. Characterisation of enucleated cells apoptosis: human platelets and erythrocytes. *Russian journal of physiology*. 2013;99(1):92-110. (In Russ.)]
10. Пивоваров Ю.И., Кузнецова Э.Э., Корякина Л.Б., и др. Реакция мембраны эритроцитов у больных стенокардией напряжения и гипертонической болезнью при кратковременной ишемии // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2013. – № 2. – С. 39–45. [Pivovarov YI, Kuznetsova EE, Koryakina LB, et al. Erythrocyte membranes response in patients with exertional angina pectoris and idiopathic essential hypertension in presence of transitory ischemia. *Tromboz, gemostaz, reologiya*. 2013;(2):39-45. (In Russ.)]
11. Рабинович А.Л., Корнилов В.В., Балабаев Н.К., и др. Свойства бислоев ненасыщенных фосфолипидов: влияние холестерина // Биологические мембраны: журнал мембранной и клеточной биологии. – 2007. – Т. 24. – № 6. – С. 490–505. [Rabinovich AL, Kornilov VV, Balabaev NK, et al. Properties of unsaturated phospholipid bilayers: Effect of cholesterol. *Biochemistry (Moscow) Supplement. Series A: Membrane and Cell Biology*. 2007;1(4):343-357. (In Russ.)]
12. Стародубцева М.Н. Индуцированный пероксинитритом апоптоз эритроцитов // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – № 1. – С. 117–122. [Starodubtseva MN. Peroxynitrite-induced red blood cell apoptosis. *Problemy zdorov'ya i ekologii*. 2009;(1):117-122. (In Russ.)]
13. Степанов Е.А., Краснопольский Ю.М., Швеиц В.И.; АН СССР, Ин-т биохимии им. А.Н. Баха, Науч. совет по пробл. биохимии животных и человека. Физиологически активные липиды. – М.: Наука, 1991. – 134 с. [Stepanov EA, Krasnopolskiy YM, Shvets VI; AN SSSR, In-t biokhimii im. A.N. Bakha, Nauch. совет po probl. biokhimii zhivotnykh i cheloveka. Fiziologicheski aktivnyye lipidy. Moscow: Nauka; 1991. 134 p. (In Russ.)]
14. Сюсин И.В., Девяткин А.А., Ревин В.В. Влияние липидов и их метаболитов на регуляцию выброса ядра из эритроцитов голубя // Биологические мембраны: журнал мембранной и клеточной биологии. – 2013. – Т. 30. – № 1. – С. 52. [Syusin IV, Devyatkin AA, Revin VV. The impact of lipids and their metabolites on the regulation of the emission of the pigeon erythrocytes nucleus. *Biologicheskie membrany*. 2013;30(1):52. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.7868/S0233475512050039>.
15. Циркин В.И., Ноздрачев А.Д., Володченко А.И. Механизм повышения скорости агглютинации эритроцитов человека под влиянием адреналина и его связь с эритроцитозом // Доклады Академии наук. – 2013. – Т. 451. – № 4. – С. 464–467. [Cirkin VI, Nosdrathov AD, Volodchenko AI. Mechanism of increasing the rate of agglutination of human erythrocytes under the influence of adrenaline and its relation to eryptosis. *Doklady Biological Sciences*. 2013;451(1):199-202. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.7868/S0869565213220283>.

16. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Лекция 3. Метаболические особенности эритроцитов // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 1–2. – С. 331–332. [Chesnokova NP, Ponucalina EV, Bizenkova MN. Lektsiya 3. Metabolicheskie osobennosti eritrotsitov. *Advances in current natural sciences*. 2015;(1-2):331-332. (In Russ).]
17. Шевченко О.Г. Роль холестерина в структурной организации мембран эритроцитов // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. – 2010. – № 6. – С. 10–14. [Shevchenko OG. The role of cholesterol in the structural organization of erythrocyte membranes. *Vestnik Instituta biologii Komi NTs UrO RAN*. 2010;(6):10-14. (In Russ.)]
18. Шевченко О.Г. Фосфолипидная компонента мембран эритроцитов в норме и патологии // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. – 2007. – № 2. – С. 2–8. [Shevchenko OG. Phospholipid component of red blood cells membranes in norm and pathology. *Vestnik Instituta biologii Komi NTs UrO RAN*. 2007;(2):2-8. (In Russ.)]
19. Abed M, Towhid ST, Pakladok T, et al. Effect of bacterial peptidoglycan on erythrocyte death and adhesion to endothelial cells. *Int J Med Microbiol*. 2013;303(4):182-189. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.01.004>.
20. Attanasio P, Bissinger H, Haverkamp W, et al. Enhanced suicidal erythrocyte death in acute cardiac failure. *Eur J Clin Investig*. 2015;45(12):1316-1324. <https://doi.org/10.1111/eci.12555>.
21. Ahlqvist KJ, Leoncini S, Pecorelli A, et al. MtDNA mutagenesis impairs elimination of mitochondria during erythroid maturation leading to enhanced erythrocyte destruction. *Nat Commun*. 2015;6(1):6494. <https://doi.org/10.1038/ncomms7494>.
22. Ahmed MS, Langer H, Abed M, et al. The uremic toxin acrolein promotes suicidal erythrocyte death. *Kidney Blood Press Res*. 2013;37(2-3):158-167. <https://doi.org/10.1159/000350141>.
23. Ahyayauch H, Garcia-Arribas AB, Sot J, et al. Pb(II) induces scramblase activation and ceramide-domain generation in red blood cells. *Sci Rep*. 2018;8(1):7456. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25905-8>.
24. Abed M, Artunc F, Alzoubi K, et al. Suicidal erythrocyte death in end-stage renal disease. *J Mol Med*. 2014;92(8):871-9. <https://doi.org/10.1007/s00109-014-1151-4>.
25. Aird WC. The hematologic system as a marker of organ dysfunction in sepsis. *Mayo Clin Proc*. 2003;78(7):869-881. <https://doi.org/10.4065/78.7.869>.
26. Al Mamun Bhuyan A, Cao H., Lang F. Triggering of eryptosis the suicidal erythrocyte death by mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor temsirolimus. *Cell Physiol Biochem*. 2017;42(4):1575-1591. <https://doi.org/10.1159/000479398>.
27. Al Mamun Bhuyan A, Signoretto E, Bissinger R, Lang F. Enhanced eryptosis following exposure to dolutegravir. *Cell Physiol Biochem*. 2016;39(2):639-650. <https://doi.org/10.1159/000445655>.
28. Allan D, Billah MM, Finean JB, Michell RH. Release of diacylglycerol-enriched vesicles from erythrocytes with increased intracellular (Ca<sup>2+</sup>). *Nature*. 1976;261(5555):58-60. <https://doi.org/10.1038/261058a0>.
29. Aleman MM, Walton BI, Byrnes JR, Wolberg AS. Fibrinogen and red blood cells in venous thrombosis. *Thromb Res*. 2014;133(Suppl. 1): S33-S40. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2014.03.017>.
30. Anderson DR, Davis JL, Carraway KL. Calcium-promoted changes of the human erythrocyte membrane. Involvement of spectrin, transglutaminase, and a membrane-bound protease. *J Biol Chem*. 1977;252(19):6617-6623.
31. Antonelou MH, Kriebardis AG, Papassideri IS. Aging and death signalling in mature: red cells: from basic science to transfusion practice. *Blood Transfus*. 2010;8(Suppl. 3): 39-47. <https://doi.org/10.2450/2010.007S>.
32. Aguilar-Dorado IC, Hernández G, Quintanar-Escorza MA, et al. Eryptosis in lead-exposed workers. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014;281(2):195-202. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2014.10.003>.
33. Arashiki N, Takakuwa Y. Maintenance and regulation of asymmetric phospholipid distribution in human erythrocyte membranes: implications for erythrocyte functions. *Curr Opin in Hematol*. 2017;24(3):167-172. <https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000326>.
34. Arashiki N, Takakuwa Y, Mohandas N, et al. ATP11C is a major flippase in human erythrocytes and its defect causes congenital hemolytic anemia. *Haematologica*. 2016;101(5):559-565. <https://doi.org/10.3324/haematol.2016.142273>.
35. Arnold M, Bissinger R, Lang F. Mitoxantrone-induced suicidal erythrocyte death. *Cell Physiol Biochem*. 2014;34(5): 1756-1767. <https://doi.org/10.1159/000366376>.
36. Artz AS, Thirman MJ. Unexplained anemia predominates despite all intensive evaluation in a racially diverse cohort of older adults from a referral anemia clinic. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2011;66A(8):925-932. <https://doi.org/10.1093/gerona/glr090>.
37. Arandjelovic S, Ravichandran KS. Phagocytosis of apoptotic cells in homeostasis. *Nat Immunol*. 2015;16(9): 907-917. <https://doi.org/10.1038/ni.3253>.
38. Ashraf MZ, Gupta N. Scavenger receptors: implications in atherothrombotic disorders. *Int J Biochem Cell Biol*. 2011;43(5):697-700. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2011.01.019>.
39. Ashraf MZ, Sahu A. Scavenger receptors: a key player in cardiovascular diseases. *BioMol Concepts*. 2012;3(4): 371-380. <https://doi.org/10.1515/bmc-2012-0003>.
40. Aihartakarn V, Angchaisuksiri P, Aryurachai K, et al. Relationship between hypercoagulable state and erythrocyte phosphatidylserine exposure in splenectomized haemoglobin E/beta-thalassaemic patients. *Br J Haematol*. 2002;118(3):893-898. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2002.03711.x>.
41. Audiger C, Rahman MJ, Yun TJ, et al. The importance of dendritic cells in maintaining immune tolerance. *J Immunol*. 2017;198(6):2223-2231. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601629>.
42. Banel P, Andreani P, Graler MH. Erythrocytes store and release sphingosine 1-phosphate in blood. *FASEB J*. 2007;21(4):1202-9. <https://doi.org/10.1096/fj.06-7433com>.
43. Barday AN, van den Berg TK. The interaction between signal regulatory protein alpha (SIRPalpha) and CD47: struc-



- ture, function and therapeutic target. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:25-50. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120142>.
44. Barcellini W. New insights in the pathogenesis of autoimmune hemolytic anemia. *Transfus Med Hemother.* 2015;42(5):287-293. <https://doi.org/10.1159/000439002>.
  45. Banerjee D, Saha S, Basu S, Chakrabarti A. Porous red cell ultrastructure and loss of membrane asymmetry in a novel case of hemolytic anemia. *Eur J Haematol.* 2008;81(5):399-402. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2008.01153.x>.
  46. Barr ID, Chauhan AK, Sdlaeffer GV, et al. Red blood cells mediate the onset of thrombosis in the ferric chloride murine model. *Blood.* 2013;121(18):3733-3741. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-11-468983>.
  47. Basu S, Banerjee D, Chandra S, Chakrabarti A. Eryptosis in hereditary nocturnal spherocytosis and thalassemia: role of glycoconjugates. *Glycoconj J.* 2010;27(7-9):717-722. <https://doi.org/10.1007/s10719-009-9257-6>.
  48. Basu S, Banerjee D, Ghosh M, Chakrabarti A. Erythrocyte membrane defects and asymmetry in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and myelodysplastic syndrome. *Hematology.* 2010;15(4):236-239. <https://doi.org/10.1179/102453309X12583347114095>.
  49. Bartolmäs T, Mayer B, Balola AH, Salama A. Eryptosis in autoimmune haemolytic anaemia. *Eur J Haematol.* 2018;100(1):36-44. <https://doi.org/10.1111/ejh.12976>.
  50. Bhuyan AM, Cao H, Lang F. Triggering of eryptosis, the suicidal erythrocyte death by mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor temsirolimus. *Cell Physiol Biochem.* 2017;42(4):1575-1591. <https://doi.org/10.1159/000479398>.
  51. Benedik PS, Hamlin SK. The physiologic role of erythrocytes in oxygen delivery and implications for blood storage. *Crit Care Nurs Clin North Am.* 2014;26(3):325-335. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2014.04.002>.
  52. Berg CR, Engels IH, Rothbert A, et al. Human mature red blood cells express caspase-3 and caspase-8 but are devoid of mitochondrial regulators of apoptosis. *Cell Death Differ.* 2001;8(12):1197-1206. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400905>.
  53. Bester J, Pretorius E. Effects of IL-1beta, IL-6 and IL-8 on erythrocytes, platelets, and clot viscoelasticity. *Sci Rep.* 2016;6:32188. <https://doi.org/10.1038/srep32188>.
  54. Birka C, Lang PA, Kempe DS, et al. Enhanced susceptibility to erythrocyte «apoptosis» following phosphate depletion. *Pflugers Arch.* 2004;448(5):471-477. <https://doi.org/10.1007/s00424-004-1289-y>.
  55. Bissinger R, Artunc F, Qadri SM, Lang F. Reduced erythrocyte survival in uremic patients under hemodialysis or peritoneal dialysis. *Kidney Blood Press Res.* 2016;41(6):966-977. <https://doi.org/10.1159/000450563>.
  56. Bissinger R, Bhuyan AA, Qadri SM, Lang F. Oxidative stress, eryptosis and anemia: a pivotal mechanistic nexus in systemic diseases. *FEBS J.* 2019;286(5):826-854. <https://doi.org/10.1111/febs.14606>.
  57. Bissinger H, Bouguerra G, Stockinger K, et al. Triggering of suicidal erythrocyte death by topotecan. *Cell Physiol Biochem.* 2015;37(4):1607-1618. <https://doi.org/10.1159/000438527>.
  58. Bissinger R, Kempe-Teufel DS, Honisch S, et al. Stimulated suicidal erythrocyte death in arteritis. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39(3):1068-1077. <https://doi.org/10.1159/000447814>.
  59. Bissinger R, Lang E, Ghashghaenia M, et al. Blunted apoptosis of erythrocytes in mice deficient in the heterotrimeric G-protein subunit Gai2. *Sci Rep.* 2016;6:30925. <https://doi.org/10.1038/srep30925>.
  60. Bissinger R, Schumacher C, Qadri SM, et al. Enhanced eryptosis contributes to anemia in lung cancer patients. *Oncotarget.* 2016;7(12):14002-14014. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7286>.
  61. Blokhin IO, Lentz SR. Mechanisms of thrombosis in obesity. *Curr Opin Hematol.* 2013;20(5):437-444. <https://doi.org/10.1097/MOH.0b013e3283634443>.
  62. Bobbala D, Alesutan I, Faller M, et al. Effect of anandamide in plasmodium berghei-infected mice. *Cell Physiol Biochem.* 2010;26(3):355-362. <https://doi.org/10.1159/000320559>.
  63. Bookchin RM, Etzion Z, Sorette M, et al. Identification and characterization of a newly recognized population of high-Na<sup>+</sup>, low-K<sup>+</sup>, low-density sickle and normal red cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97(14):8045-8050. <https://doi.org/10.1073/pnas.130198797>.
  64. Browning JA, Robinson HC, Ellory JC, Gibson JS. Deoxygenation-induced non-electrolyte pathway in red cells from sickle cell patients. *Cell Physiol Biochem.* 2007;19(1-4):165-174. <https://doi.org/10.1159/000099204>.
  65. Bosman GJ. Survival of red blood cells after transfusion: processes and consequences. *Front Physiol.* 2013;4:376. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00376>.
  66. Bosman GJ, Cluitmans JC, Groenen YA, et al. Susceptibility to hyperosmotic stress-induced phosphatidylserine exposure increases during red blood cell storage. *Transfusion.* 2011;51(5):1072-1088. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2010.02929.x>.
  67. Borst O, Ahed M, Alesutan I, et al. Dynamic adhesion of eryptotic erythrocytes to endothelial cells via CXCL16/SR-PSOX. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2012;302(4):C644-C651. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00340.2011>.
  68. Boulet C, Doerig CD, Carvalho TG, et al. Manipulating eryptosis of human red blood cells: a novel antimalarial strategy? *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;20(2):361-366. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00419>.
  69. Bonomini M, del Vecchio L, Sirolli V, Locatelli F. New treatment approaches for the anemia of CKD. *Am J Kidney Dis.* 2016;67(1):133-142. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.06.030>.
  70. Bratosin D, Estaquier J, Ameisen JC, Montreuil J. Molecular and cellular mechanisms of erythrocyte programmed cell death: impact on blood transfusion. *Vox Sang.* 2002;83(Suppl. 1):307-310. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2002.tb05324.x>.
  71. Brugnara C, de Franceschi L, Alper SL. Inhibition of Ca<sup>2+</sup> dependent K<sup>+</sup> transport and cell dehydration in sickle erythrocytes by doxtrimazole and other imidazole derivatives. *J Clin Invest.* 1993;92(1):520-6. <https://doi.org/10.1172/JCI116597>.
  72. Bouguerra G, Bissinger R, Abbes S, Lang F. Zopolrestat induced suicidal death of human erythrocytes. *Cell*

- Physiol Biochem.* 2015;37(4):1537-1546. <https://doi.org/10.1159/000438521>.
73. Briglia M, Fazio A, Faggio C, et al. Triggering of suicidal erythrocyte death by ruxolitinib. *Cell Physiol Biochem.* 2015;37(2):768-778. <https://doi.org/10.1159/000430394>.
  74. Burger P, Hilarius-Stokman P, de Korte D, et al. CD47 functions as a molecular switch for erythrocyte phagocytosis. *Blood.* 2012;119(23):5512-5521. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-386805>.
  75. Canlabro S, Alzouhi K, Faggio C, et al. Triggering of suicidal erythrocyte death following boswellic acid exposure. *Cell Physiol Biochem.* 2015;37(1):131-142. <https://doi.org/10.1159/000430339>.
  76. Canham PB, Burton AC. Distribution of size and shape in populations of normal human red cells. *Circ Res.* 1968;22(3):405-422. <https://doi.org/10.1161/01.res.22.3.405>.
  77. Cappellini MD, Musallam KM, Poggiali E, Taher AT. Hypercoagulability in nontransfusion-dependent thalassemia. *Blood Rev.* 2012;26(Suppl. 1): S20-23. [https://doi.org/10.1016/S0268-960X\(12\)70007-3](https://doi.org/10.1016/S0268-960X(12)70007-3).
  78. Chang AL, Hoehn RS, Jemigan P, et al. Previous cryopreservation alters the natural history of the red blood cell storage lesion. *Shock.* 2016;46(3 Suppl 1):89-95. <https://doi.org/10.1097/SNK.0000000000000668>.
  79. Chen LT, Weiss L. The role of the sinus wall in the passage of erythrocytes through the spleen. *Blood.* 1973;41(4):529-537.
  80. Cohen CM, Gascard P. Regulation and post-translational modification of erythrocyte membrane and membrane-skeletal proteins. *Semin Hematol.* 1992;29(4):244-292.
  81. Dahal IN, Hall LS, Barker RN, Ward FJ. Indoleamine 2,3-dioxygenase contributes to transferable tolerance in rat red blood cell inducible model of experimental autoimmune haemolytic anaemia. *Clin Exp Immunol.* 2013;173(1):58-66. <https://doi.org/10.1111/cei.12091>.
  82. Danielli JF, Davson H. A contribution to the theory of permeability of thin films. *J Cell Comparativ Physiol.* 1935;5(4):495-508. <https://doi.org/10.1002/jcp.1030050409>.
  83. Dharmarajan TS. Anemia in the long-term care setting: routine screening and differential diagnosis. *Consult Pharm.* 2008;23(Suppl A):5-10.
  84. Dias GF, Bonan NB, Steiner TM, et al. Indoxyl sulfate, a uremic toxin, stimulates reactive oxygen species production and erythrocyte cell death supposedly by an organic anion transporter 2 (OAT2) and NADPH oxidase activity-dependent pathways. *Toxins.* 2018;10:280. <https://doi.org/10.3390/toxins10070280>.
  85. Dinkla S, van Eijk LT, Fuchs B, et al. Inflammation-associated changes in lipid composition and the organization of the erythrocyte membrane. *BBA Clin.* 2016;5:186-192. <https://doi.org/10.1016/j.bbacli.2016.03.007>.
  86. Dinkla S, Wessels K, Verdurmen WP, et al. Functional consequences of sphingomyelinase-induced changes in erythrocyte membrane structure. *Cell Death Dis.* 2012;18(3):e410. <https://doi.org/10.1038/cddis.2012.143>.
  87. Dyrda A, Cytlak U, Ciuraszkiewicz A, et al. Local membrane deformations activate Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> and anionic currents in intact human red blood cells. *PLoS ONE.* 2010;5(2):e9447. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009447>.
  88. Duranton C, Huber SM, Lang F. Oxidation induces a Cl(-)-dependent cation conductance in human red blood cells. *J Physiol.* 2002;539(Pt 3):847-855.
  89. Fakhouri F, Zuber J, Fremeaux-Bacchi V, Loirat C. Haemolytic uraemic syndrome. *Lancet.* 2017;390(10095):681-696. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30062-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30062-4).
  90. Fallatah O, Georges E. Apigenin-induced ABCC1-mediated efflux of glutathione from mature erythrocytes inhibits the proliferation of Plasmodium falciparum. *Int J Antimicrob Agents.* 2017;50(5):673-677. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.08.014>.
  91. Farag MR, Alagawany M. Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity. *Chem Biol Interact.* 2018;279:73-83. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.11.007>.
  92. Fazio A, Briglia M, Faggio C, et al. Oxaliplatin induced suicidal death of human erythrocytes. *Cell Physiol Biochem.* 2015;37(6):2393-2404. <https://doi.org/10.1159/000438592>.
  93. Felder KM, Hoelzle K, Ritzmann M, et al. Hemotrophic mycoplasmas induce programmed cell death in red blood cells. *Cell Physiol Biochem.* 2011;27(5):557-564. <https://doi.org/10.1159/000329957>.
  94. Fezai M, Slaymi C, Ben-Attia M, et al. Purified lesser weever fish venom (*Trachinus-vipera*) induces eryptosis, apoptosis and cell cycle arrest. *Sci Rep.* 2016;6:39288. <https://doi.org/10.1038/srep39288>.
  95. Filippov A, Oradd G, Lindblom G. The effect of cholesterol on the lateral diffusion of phospholipids in oriented bilayers. *Biophys J.* 2003;84(5):3079-3086. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(03\)70033-2](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(03)70033-2).
  96. Fischer K, Voelkl S, Berger I, et al. Antigen recognition induces phosphatidylserine exposure on the cell surface of human CD8<sup>+</sup> T cells. *Blood.* 2006;108:4094-4101. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-03-011742>.
  97. Flannagan RS, Jaumouille V, Grinstein S. The cell biology of phagocytosis. *Annu Rev Pathol.* 2012;7:61-98. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011811-132445>.
  98. Föller M, Biswas R, Mahmud H, et al. Effect of peptidoglycan on erythrocyte survival. *Int J Med Microbiol.* 2009;299(1):75-85. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.05.012>.
  99. Föller M, Bobbala D, Koka S, et al. Suicide for survival death of infected erythrocytes as a host mechanism to survive malaria. *Cell Physiol Biochem.* 2009;24(3-4):133-140. <https://doi.org/10.1159/000233238>.
  100. Föller M, Braun M, Qadri SM, et al. Temperature sensitivity of suicidal erythrocyte death. *Eur J Clin Investig.* 2010;40(6):534-540. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2010.02296.x>.
  101. Föller M, Feil S, Ghoreschi K, et al. Anemia and splenomegaly in cGKI-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105(18):6771-6776. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708940105>.
  102. Föller M, Harris IS, Elia A, et al. Functional significance of glutamate-cysteine ligase modifier for erythrocyte survival *in vitro* and *in vivo*. *Cell Death Differ.* 2013;20(10):1350-1358. <https://doi.org/10.1038/cdd.2013.70>.

103. Föller M, Kasinathan RS, Koka S, et al. TRPC6 contributes to the Ca<sup>2+</sup> leak of human erythrocytes. *Cell Physiol Biochem*. 2008;21(1-3):183-192. <https://doi.org/10.1159/000113760>.
104. Föller M, Mahmud H, Gu S, et al. Participation of leukorieniene C(4) in the regulation of suicidal erythrocyte death. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60(3):135-143.
105. Föller M, Mahmud H, Gu S, et al. Modulation of suicidal erythrocyte cation channels by an AMPA antagonist. *J Cell Mol Med*. 2009;13(9B):3680-3686. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00745.x>.
106. Föller M, Mahmud H, Qadri SM, et al. Endothelin B receptor stimulation inhibits suicidal erythrocyte death. *FASEB J*. 2010;24(9):3351-3359. <https://doi.org/10.1096/fj.10-159483>.
107. Föller M, Shumilina E, Lam R, et al. Induction of suicidal erythrocyte death by listeriolysin from *Listeria monocytogenes*. *Cell Physiol Biochem*. 2007;20(6):1051-1060. <https://doi.org/10.1159/000110715>.
108. Föller M, Sopjani M, Koka S, et al. Regulation of erythrocyte survival by AMP-activated protein kinase. *FASEB J*. 2009;23(4):1072-1080. <https://doi.org/10.1096/fj.08-121772>.
109. Föller M, Sopjani M, Mahmud H, Lang F. Vanadate-induced suicidal erythrocyte death. *Kidney Blood Press Res*. 2008;31(2):87-93. <https://doi.org/10.1159/000119704>.
110. Fossati-Jimaek L, Azeredo da Silveira S, Moll T, et al. Selective increase of autoimmune epitope expression in erythrocytes in mice: implications in anti-erythrocyte autoimmune responses. *J Autoimmun*. 2002;18(1):17-25. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-386805>.
111. Fraenkel PG. Anemia of inflammation: a review. *Med Clin North Am*. 2017;101(2):285-296. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.09.005>.
112. Franco RS, Puchulu-Campanella ME, Barber LA, et al. Changes in the properties of normal human red blood cells during *in vivo* aging. *Am J Hematol*. 2013;88(1):44-51. <https://doi.org/10.1002/ajh.23344>.
113. Fujita H, Sakuma R, Tomiyama J, et al. Increased phosphatidylserine exposure on the erythrocyte membrane in patients with polycythemia vera. *Br J Haematol*. 2011;152(2):238-241. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08379.x>.
114. Gammella E, Buratti P, Cairo G, Recalcati S. Macrophages: central regulators of iron balance. *Metallo-mics*. 2014;6(8):1336-1345. <https://doi.org/10.1039/c4mt00104d>.
115. Gatidis S, Föller M, Lang F. Hemin-induced suicidal erythrocyte death. *Ann Hematol*. 2009;88(8):721-726. <https://doi.org/10.1007/s00277-009-0697-7>.
116. Gatidis S, Zelenak C, Faiol A, et al. p38 MAPK activation and function following osmotic shock, of erythrocytes. *Cell Physiol Biochem*. 2011;28(6):1279-1286. <https://doi.org/10.1159/000335859>.
117. Gao C, Ji S, Dong W, et al. Indolic uremic solutes enhance procoagulant activity of red blood cells through phosphatidylserine exposure and microparticle release. *Toxins*. 2015;7(11):4390-4403. <https://doi.org/10.3390/toxins7114390>.
118. Gardai SJ, McPhillips KA, Fraseh SC, et al. Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. *Cell*. 2005;123(2):321-334. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.08.032>.
119. Garcia SC, Schon K, Charao M, et al. Quantification of reduced glutathione by HPLC-UV in erythrocytes of hemodialysis patients. *Biomed Chromatogr*. 2008;22(5):460-468. <https://doi.org/10.1002/bmc.954>.
120. Gaspar BL, Sharma P, Das R. Anemia in malignancies: pathogenetic and diagnostic considerations. *Hematology*. 2015;20(1):18-25. <https://doi.org/10.1179/1607845414Y.0000000161>.
121. George FD. Microparticles in vascular diseases. *Thromb Res*. 2008;112(Suppl. 1): S55-59. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(08\)70020-3](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(08)70020-3).
122. Gilreath JA, Stenehjem DD, Rodgers GM. Diagnosis and treatment of cancer-related anemia. *Am J Hematol*. 2014;89(2):203-212. <https://doi.org/10.1002/ajh.23628>.
123. Gladwin MT. Role of the red blood cell in nitric oxide homeostasis and hypoxic vasodilation. *Adv Exp Med Biol*. 2006;588:189-205. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-34817-9\\_17](https://doi.org/10.1007/978-0-387-34817-9_17).
124. Ghashghaieina M, Cluitmans JS, Akel A, et al. The impact of erythrocyte age on eryptosis. *Br J Haematol*. 2012;157(5):606-614. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2012.09100.x>.
125. Ghashghaieina M, Giustarini D, Koralkova P, et al. Pharmacological targeting of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human erythrocytes by Bay 11-7082, parthenolide and dimethyl fumarate. *Sci Rep*. 2016;6:28754. <https://doi.org/10.1038/srep28754>.
126. Giannouli S, Voulgarelis M, Ziakas PD, Tzioufas AG. Anaemia in systemic lupus erythematosus: from pathophysiology to clinical assessment. *Ann Rheum Dis*. 2006;65(2):144-148. <https://doi.org/10.1136/ard.2005.041673>.
127. Gonzalez-Gay MA, Garcia-Porrua C, Miranda-Eillo JA. Giant cell arteritis: diagnosis and therapeutic management. *Curr Rheumatol Rep*. 2006;8(4):299-302. <https://doi.org/10.1007/s11926-006-0013-7>.
128. Gow AJ, Luchsinger BP, Pawloski JR, et al. The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci*. 1999;96(16):9027-32. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.16.9027>.
129. Gudjoncik A, Guenancia C, Zeller M, et al. Iron, oxidative stress, and redox signaling in the cardiovascular system. *Mol Nutr Food Res*. 2014;58(8):1721-1738. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400036>.
130. Gusev GP, Govekar R, Qadewal N, Agalakova NI. Understanding quasi-apoptosis of the most numerous enucleated components of blood needs detailed molecular autopsy. *Ageing Res Reviews*. 2017;35:46-62. <https://doi.org/10.1016/j.jar.2017.01.002>.
131. Haslam A, Hausman DB, Johnson MA, et al. Prevalence and predictors of anemia in a population-based study of octogenarians and centenarians in Georgia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012;67(1):100-106. <https://doi.org/10.1093/gerona/glr151>.
132. Harden JL, Egilmez NK. Indoleamine 2,3-dioxygenase and dendritic cell tolerogenicity. *Immunol Investig*. 2012;41

- (6-7):738-764. <https://doi.org/10.3109/08820139.2012.676122>.
133. Hermand P, Gane P, Huet M, et al. Red cell ICAM-4 is a novel ligand for platelet-activated alpha IIbeta 3 integrin. *J Biol Chem*. 2003;278:970:4892-4898. <https://doi.org/10.1074/jbc.M211282200>.
  134. Hhavsar SK, Gu S, Bobhala D, Lang F. Janus kinase 3 is expressed in erythrocytes, phosphorylated upon energy depletion and involved in the regulation of suicidal erythrocyte death. *Cell Physiol Biochem*. 2011;27(5):547-556. <https://doi.org/10.1159/000329956>.
  135. Hodgson A, Wier EM, Fu K, et al. Ultrasound imaging of splenomegaly as a proxy to monitor colon tumor development in Apc(min716/+) mice. *Cancer Med*. 2016;5(9):2469-76. <https://doi.org/10.1002/cam4.842>.
  136. Hofnagel O, Engel T, Severs NJ, et al. SR-PSOX at sites predisposed to atherosclerotic lesion formation mediates monocyte-endothelial cell adhesion. *Atherosclerosis*. 2011;217(2):371-378. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.04.021>.
  137. Holthoff JH, Wang Z, Seely KA, et al. Resveratrol improves renal microcirculation protects the tubular epithelium, and prolongs survival in a mouse model of sepsis-induced acute kidney injury. *Kidney Int*. 2012;81(4):370-378. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.347>.
  138. Hortle E, Nijagal B, Bauer DC, et al. Adenosine monophosphate deaminase 3 activation shortens erythrocyte half-life and provides malaria resistance in mice. *Blood*. 2016;128(9):1290-1301. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-09-666834>.
  139. Huang YX, Tuo WW, Wang D, et al. Restoring the youth of aged red blood cells and extending their lifespan in circulation by remodelling membrane sialic acid. *J Cell Mol Med*. 2016;20(2):294-301. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12721>.
  140. Huber SM, Uhlemann AC, Gamper NL, et al. Plasmodium falciparum activates endogenous Cl(-) channels of human erythrocytes by membrane oxidation. *EMBO J*. 2002;21(1-2):22-30. <https://doi.org/10.1093/emboj/21.1.22>.
  141. Hoehn HS, Jernigan PI, Chang AL, et al. Acid sphingomyelinase inhibition prevents hemolysis during erythrocyte storage. *Cell Physiol Biochem*. 2016;39(1):331-340. <https://doi.org/10.1159/000445627>.
  142. Idoyaga J, Suda N, Suda K, et al. Antibody to Langerin/CD207 localizes large numbers of CD8alpha+ dendritic cells to the marginal zone of mouse spleen. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(5):1524-1529. <https://doi.org/10.1073/pnas.0812247106>.
  143. Jacobi J, Lang E, Bissinger R, et al. Stimulation of erythrocyte cell membrane scrambling by mitotane. *Cell Physiol Biochem*. 2014;33(5):1516-1526. <https://doi.org/10.1159/000358715>.
  144. Janz TG, Johnson RL, Rubenstein SD. Anemia in the emergency department: evaluation and treatment. *Emerg Med Pract*. 2013;15(11):1-15.
  145. Jiang P, Bian M, Ma W, et al. Eryptosis as an underlying mechanism in systemic lupus erythematosus-related anemia. *Cell Physiol Biochem*. 2016;40(6):1391-1400. <https://doi.org/10.1159/000453191>.
  146. Jilani K, Abed M, Zelenak C, et al. Triggering of erythrocyte cell membrane scrambling by ursolic acid. *J Nat Prod*. 2011;74(10):2181-2186. <https://doi.org/10.1021/np2005133>.
  147. Jilani K, Qadri SM, Zelenak C, Lang F. Stimulation of suicidal erythrocyte death by oridonin. *Arch Biochem Biophys*. 2011;511(1-2):14-20. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2011.05.001>.
  148. Jilani K, Qadri SM, Lang E, et al. Stimulation of erythrocyte phospholipid scrambling by enniatin A. *Mol Nutr Food Res*. 2011;55(Suppl. 2):S294-302. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100156>.
  149. Jiang P, Bian M, Ma W, et al. Eryptosis as an underlying mechanism in systemic lupus erythematosus-related anemia. *Cell Physiol Biochem*. 2016;40(6):1391-1400. <https://doi.org/10.1159/000453191>.
  150. Jimenez-Diaz MB, Eber D, Salinas Y, et al. (+)-SJ733, a clinical candidate for malaria that acts through ATP4 to induce rapid host-mediated clearance of *Plasmodium*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(50):E5455-5462. <https://doi.org/10.1073/pnas.1414221111>.
  151. Johnson RM, Tang K. Induction of a Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channel in human erythrocytes by mechanical stress. *Biochim Biophys Acta*. 1992;1107(2):314-318. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(92\)90418-l](https://doi.org/10.1016/0005-2736(92)90418-l).
  152. Johnson R.M. Membrane stress increases cation permeability in red cells. *Biophys J*. 1994;67(5):1876-1881.
  153. Kagan VE, Fabisiak JP, Shvedova AA. Oxidative signaling pathway for externalization of plasma membrane phosphatidylserine during apoptosis. *FEBS Letters*. 2000;477(1-2):1-7. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(00\)01707-5](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)01707-5).
  154. Kato GJ, Steinberg MH, Gladwin MT. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *J Clin Invest*. 2017;127(3):750-760. <https://doi.org/10.1172/JCI89741>.
  155. Kean LS, Brown LE, Nichols JW, et al. Comparison of mechanisms of anemia in mice with sickle cell disease and beta-thalassemia: peripheral destruction, ineffective erythropoiesis, and phospholipid scramblase-mediated phosphatidylserine exposure. *Exp Hematol*. 2002;30(5):394-402. [https://doi.org/10.1016/s0301-472x\(02\)00780-4](https://doi.org/10.1016/s0301-472x(02)00780-4).
  156. Kempe DS, Ake1 A, Lang PA, et al. Suicidal erythrocyte death in sepsis. *J Mol Med*. 2007;85(3):273-281. <https://doi.org/10.1007/s00109-006-0123-8>.
  157. Kempe DS, Ackermann TF, Fischer SS, et al. Accelerated suicidal erythrocyte death in Klotho-deficient mice. *Pflugers Arch*. 2009;458:503-512. <https://doi.org/10.1007/s00424-009-0636-4>.
  158. Kempe DS, Lang PA, Duranton C, et al. Enhanced programmed cell death of iron-deficient erythrocytes. *FASEB J*. 2006;20(2):368-370. <https://doi.org/10.1096/fj.05-4872fje>.
  159. Kempe-Teufel DS, Bissinger R, Qadri SM, et al. Cellular markers of eryptosis are altered in type 2 diabetes. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(7):e177-e180. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-1058>.
  160. Khandelwal S, Saxena RK. A role of phosphatidylserine externalization in clearance of erythrocytes exposed to

- stress but not in eliminating aging populations of erythrocyte in mice. *Exp Gerontol.* 2008;43(8):764-770. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2008.05.002>.
161. Kiefer CR, Snyder LM. Oxidation and erythrocyte senescence. *Curr Opin Hematol.* 2000;7(2):113-116. <https://doi.org/10.1097/00062752-200003000-00007>.
  162. Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell.* 1996;87(2):159-170. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81333-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81333-1).
  163. Klarl BA, Lang PA, Kempe DS, et al. Protein kinase C mediates erythrocyte "programmed cell death" following glucose depletion. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;290(1):C244-253. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00283.2005>.
  164. Klei TR, Meinderts SM, van den Berg TK, van Bruggen R. From the cradle to the grave: the role of macrophages in erythropoiesis and erythrophagocytosis. *Front Immunol.* 2017;8:73. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00073>.
  165. Knutson M, Wessling-Resnick M. Iron metabolism in the reticuloendothelial system. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2003;38(1):61-88. <https://doi.org/10.1080/713609210>.
  166. Kohyama M, Ise W, Edelson BT, et al. Role for Spi-C in the development of red pulp macrophages and splenic iron homeostasis. *Nature.* 2009;457(7227):318-321. <https://doi.org/10.1038/nature07472>.
  167. Koury MJ. Abnormal erythropoiesis and the pathophysiology of chronic anemia. *Blood Rev.* 2014;28(2):49-66. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2014.01.002>.
  168. Kriebardis AG, Antonelou MH, Stamoulis KE, et al. Progressive oxidation of cytoskeletal proteins and accumulation of denatured hemoglobin in stored red cells. *J Cell Mol Med.* 2007;11(1):148-155. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2007.00008.x>.
  169. Kucherenko Y, Zelenak C, Eberhard M, et al. Effect of casein kinase 1 alpha activator pyrvinium pamoate on erythrocyte ion channels. *Cell Physiol Biochem.* 2012;30(2):407-417. <https://doi.org/10.1159/000339034>.
  170. Kucherenko YV, Bhavsar SK, Grischenko VI, et al. Increased cation conductance in human erythrocytes artificially aged by glycation. *J Membr Biol.* 2010;235(3):177-189. <https://doi.org/10.1007/s00232-010-9265-2>.
  171. Landolfi H, Di Gennaro L. Thrombosis in myeloproliferative and myelodysplastic syndromes. *Hematology.* 2012;17(Suppl. 1):S174-S176. <https://doi.org/10.1179/102453312X13336169156898>.
  172. Lang E, Bissinger R, Fajol A, et al. Accelerated apoptotic death and *in vivo* turnover of erythrocytes in mice lacking functional mitogen- and stress-activated kinase MSK1/2. *Sci Rep.* 2015;5:17316. <https://doi.org/10.1038/srep17316>.
  173. Lang E, Bissinger R, Gulbins E, Lang F. Ceramide in the regulation of eryptosis the suicidal erythrocyte death. *Apoptosis.* 2015;20(5):758-767. <https://doi.org/10.1007/s10495-015-1094-4>.
  174. Lang E, Bissinger R, Qadri SM, Lang F. Suicidal death of erythrocytes in cancer and its chemotherapy: A potential target in the treatment of tumor-associated anemia. *Int J Cancer.* 2017;141(8):1522-1528. <https://doi.org/10.1002/ijc.30800>.
  175. Lang E, Jilani K, Bissinger R, et al. Vitamin-D rich diet in mice modulates erythrocyte survival. *Kidney Blood Press Res.* 2015;40(4):403-412. <https://doi.org/10.1159/000368517>.
  176. Lang E, Gatidis S, Freise NF, et al. Conjugated bilirubin triggers anemia by inducing erythrocyte death. *Hepatology.* 2015;61(1):275-284. <https://doi.org/10.1002/hep.27338>.
  177. Lang E, Lang PA, Qadri SM, et al. Enhanced eryptosis of erythrocytes from gene-targeted mice lacking annexin A7. *Pflugers Arch.* 2010;460(3):667-676. <https://doi.org/10.1007/s00424-010-0829-x>.
  178. Lang E, Pozdeev VI, Gatidis S, et al. Bile acid-induced erythrocyte death. *Cell Physiol Biochem.* 2016;38(4):1500-1509. <https://doi.org/10.1159/000443091>.
  179. Lang E, Pozdeev VI, Xu HC, et al. Storage of erythrocytes induces suicidal erythrocyte death. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39(2):668-676. <https://doi.org/10.1159/000445657>.
  180. Lang E, Qadri SM, Lang F. Killing me softly – suicidal erythrocyte death. *In J Biochem Cell Biol.* 2012;44(8):1236-43. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.04.019>.
  181. Lang E, Qadri SM, Wani K, et al. Carbon monoxide-sensitive apoptotic death of erythrocytes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2012;111(5):348-355. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2012.00915.x>.
  182. Lang E, Qadri SM, Zelenak C, et al. Inhibition of suicidal erythrocyte death by blebbistatin. *Am J Phys Cell Physiol.* 2011;301(2):C490-498. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00043.2011>.
  183. Lang E, Zelenak C, Eberhard MJ, et al. Impact of cyclin-dependent kinase CDK4 inhibition on eryptosis. *Cell Physiol Biochem.* 2015;37(3):1178-1186. <https://doi.org/10.1159/000430241>.
  184. Lang F, Qadri SM. Mechanisms and significance of eryptosis, the suicidal death of erythrocytes. *Blood Purif.* 2012;33(1-3):125-130. <https://doi.org/10.1159/000334163>.
  185. Lang F, Lang KS, Lang PA, et al. Osmotic shock-induced suicidal death of erythrocytes. *Acta Physiol (Oxf).* 2006;187(1-2):191-198. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2006.01564.x>.
  186. Lang F, Abed M, Lang E, Föller M. Oxidative stress and suicidal erythrocyte death. *Antioxid Redox Signal.* 2014;21(1):131-153. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5747>.
  187. Lang KS, Duranton C, Poehlmann H, et al. Cation channels trigger apoptotic death of erythrocytes. *Cell Death Differ.* 2003;10(2):249-256. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401144>.
  188. Lang KS, Lang PA, Bauer C, et al. Mechanisms of suicidal erythrocyte death. *Cell Physiol Biochem.* 2005;15(5):195-202. <https://doi.org/10.1159/000086406>.
  189. Lang KS, Myssina S, Brand V, et al. Involvement of ceramide in hyperosmotic shock-induced death of erythrocytes. *Cell Death Differ.* 2004;11(2):231-243. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401311>.
  190. Lang KS, Roll B, Myssina S, et al. Enhanced erythrocyte apoptosis in sickle cell anemia, thalassemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Cell Physiol Biochem.* 2002;12(5-6):365-72. <https://doi.org/10.1159/000067907>.
  191. Lang PA, Beringer O, Nikolay JP, et al. Suicidal death of erythrocytes in recurrent hemolytic uremic syndrome.

- J Mol Med.* 2006;84(5):378-388. <https://doi.org/10.1007/s00109-006-0058-0>.
192. Lang PA, Kempe DS, Tanneur V, et al. Stimulation of erythrocyte ceramide formation by platelet-activating factor. *J Cell Sci.* 2005;118(Pt 6):1233-1243. <https://doi.org/10.1242/jcs.01730>.
  193. Lang PA, Shenk M, Nicolay JP, et al. Liver cell death and anemia in Wilson disease involve acid sphingomyelinase and ceramide. *Nat Med.* 2007;13(2):164-170. <https://doi.org/10.1038/nm1539>.
  194. Larsson A, Hult A, Nilsson A, et al. Red blood cells with elevated cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> are primarily taken up by splenic marginal zone macrophages and CD207+ dendritic cells. *Transfusion.* 2016;56(7):1834-1844. <https://doi.org/10.1111/trf.13612>.
  195. Levine L. Cyclooxygenase expression is not required for release of arachidonic acid from cells by some nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cancer preventive agents. *BMC Pharmacol.* 2006;29:7. <https://doi.org/1186/1471-2210-6-7>.
  196. Lew VL, Daw N, Etzion Z, et al. Effects of age-dependent membrane transport changes on the homeostasis of senescent human red blood cells. *Blood.* 2007;110(4):1334-42. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-11-057232>.
  197. Lew VL, Tiffert T. The terminal density reversal phenomenon of aging human red blood cells. *Front Physiol.* 2013;4:171. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00171>.
  198. Lindblom G, Oradd G, Filippov A. Lipid lateral diffusion in bilayers with phosphatidylcholine, sphingomyelin and cholesterol. An NMR study of dynamics and lateral phase separation. *Chem Phys Lipids.* 2006;141(1-2):179-184. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2006.02.011>.
  199. Liu M, Zhou L, Zhang B, et al. Elevation of n-3/n-6 PUFAs ratio suppresses mTORC1 and prevents colorectal carcinogenesis associated with APC mutation. *Oncotarget.* 2016;7(1):76944-76954. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12759>.
  200. Locatelli F, del Vecchio L. An expert opinion on the current treatment of anemia in patients with kidney disease. *Expert Opin Pharmacother.* 2012;13(4):495-503. <https://doi.org/10.1517/14656566.2012.658369>.
  201. Lopes de Almeida JP, Oliveira S, Saldanha C. Erythrocyte as a biological sensor. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2012;51(1):1-20. <https://doi.org/10.3233/CH-2011-1512>.
  202. Lupesku A, Jilani K, Zelenak C, et al. Hexavalent chromium-induced erythrocyte membrane phospholipid asymmetry. *Biomaterials.* 2012;25(2):309-318. <https://doi.org/10.1007/s10534-011-9507-5>.
  203. Lupescu A, Shaik N, Jilani K, et al. Enhanced erythrocyte membrane exposure of phosphatidylserine following sorafenib treatment: an *in vivo* and *in vitro* study. *Cell Physiol Biochem.* 2012;30(4):876-888. <https://doi.org/10.1159/000341465>.
  204. Lupescu A, Bissinger R, Goebel T, et al. Enhanced suicidal erythrocyte death contributing to anemia in the elderly. *Cell Physiol Biochem.* 2015;36(2):773-783. <https://doi.org/10.1159/000430137>.
  205. Lutz HU, Bogdanova A. Mechanisms tagging senescent red blood cells for clearance in healthy humans. *Front Physiol.* 2013;4:387. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00387>.
  206. Lutz MB, Schuler G. Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity? *Trends Immunol.* 2002;23(9):445-449. [https://doi.org/10.1016/s1471-4906\(02\)02281-0](https://doi.org/10.1016/s1471-4906(02)02281-0).
  207. Maellaro E, Leoncini S, Moretti D, et al. Erythrocyte caspase-3 activation and oxidative imbalance in erythrocytes and in plasma of type 2 diabetic patients. *Acta Diabetol.* 2013;50(4):489-495. <https://doi.org/10.1007/s00592-011-0274-0>.
  208. Mahmud H, Ruifrok WP, Westenbrink BD, et al. Suicidal erythrocyte death, eryptosis, as a novel mechanism in heart failure-associated anaemia. *Cardiovasc Res.* 2013;98(1):37-46. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvt010>.
  209. Marks PW. Hematologic manifestations of liver disease. *Semin Hematol.* 2013;50(3):216-221. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2013.06.003>.
  210. McQuilten ZK, French CJ, Nichol A, et al. Effect of age of red cells for transfusion on patient outcomes: systematic review and meta-analysis. *Transfus Med Rev.* 2018;32(2):77-88. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2018.02.002>.
  211. Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(8):606-616. <https://doi.org/10.1038/nri1669>.
  212. Meinderts SM, Oldenburg PA, Beuger BM, et al. Human and murine splenic neutrophils are potent phagocytes of IgG-opsonized red blood cells. *Blood Advances.* 2017;1(14):875-886. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2017004671>.
  213. Meulenbroek EM, Wouters D, Zeerleder SS. Lyse or not to lyse: clinical significance of red blood cell autoantibodies. *Blood Rev.* 2015;29(6):369-376. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2015.05.001>.
  214. Minetti G, Piccinini G, Balduini C, et al. Tyrosine phosphorylation of band 3 protein in Ca<sup>2+</sup>/A23187-treated human erythrocytes. *Biochem J.* 1996;320(Pt 2):445-450. <https://doi.org/10.1042/bj3200445>.
  215. Miyake Y, Asano K, Kaise H, et al. Critical role of macrophages in the marginal zone in the suppression of immune responses to apoptotic cell-associated antigens. *J Clin Invest.* 2007;117(8):2268-2278. <https://doi.org/10.1172/JCI31990>.
  216. Mizuno T, Zhang G, Takeuchi H, et al. Interferon-gamma directly induces neurotoxicity through a neuron specific calcium-permeable complex of IFN-gamma receptor and AMPA GluRI receptor. *FASEB J.* 2003;22(6):1797-1806. <https://doi.org/10.1096/fj.07-099499>.
  217. Myssina S, Huber SM, Birka C, et al. Inhibition of erythrocyte cation channels by erythropoietin. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(11):2750-2757. <https://doi.org/10.1159/000099204>.
  218. Mohammedi K, Bellili-Munoz N, Marklund SL, et al. Plasma extracellular superoxide dismutase concentration, allelic variations in the SOD3 gene and risk of myocardial infarction and all-cause mortality in people with type 1 and type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol.* 2015;14:845. <https://doi.org/10.1186/s12933-014-0163-2>.

219. Mqadmi A, Zheng X, Yazdanbakhsh K. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells control induction of autoimmune hemolytic anemia. *Blood*. 2005;105(9):3746-3748. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-12-4692>.
220. Nagababu E, Gulyani S, Earley CJ, et al. Iron-deficiency anaemia enhances red blood cell oxidative stress. *Free Radic Res*. 2008;42(9):824-829. <https://doi.org/10.1080/10715760802459879>.
221. Nagarajan N, Oka S, Sadoshima J. Modulation of signaling mechanisms in the heart by thioredoxin 1. *Free Radic Biol Med*. 2017;109:125-131. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.020>.
222. Nash GB, Meiselman HJ. Red cell and ghost viscoelasticity. Effects of hemoglobin concentration and in vivo aging. *Biophys J*. 1983;43(1):63-73. [https://doi.org/10.1016/s0006-3495\(83\)84324-0](https://doi.org/10.1016/s0006-3495(83)84324-0).
223. Netgiz-Unal R, Rademakers T, Cosemans JM, Heemskerk JW. CD36 as a multiple ligand signaling receptor in atherosclerosis. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2011;9(1):42-55. <https://doi.org/10.2174/187152511794182855>.
224. Nicolay JP, Liebig G, Niemoeller OM, et al. Inhibition of suicidal erythrocyte death by nitric oxide. *Pflugers Arch*. 2008;456(2):293-305. <https://doi.org/10.1007/s00424-007-0393-1>.
225. Nguyen DB, Ly TB, Wesseling MC, et al. Characterization of microvesicles released from human red blood cells. *Cell Physiol Biochem*. 2016;38(3):1085-1099. <https://doi.org/10.1159/000443059>.
226. Nicolay JP, Schneider J, Niemoeller OM, et al. Stimulation of suicidal erythrocyte death by methylglyoxal. *Cell Physiol Biochem*. 2006;18(4-5):223-232. <https://doi.org/10.1159/000097669>.
227. Nilsson A, Vesterlund L, Oldenborg PA. Macrophage expression of LRPI a receptor for apoptotic cells and unopsonized erythrocytes can be regulated by glucocorticoid. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;417(4):1304-1309. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.12.137>.
228. Nilsson A, Oldenborg PA. CD47 promotes both phosphatidylserine-independent and phosphatidylserine-dependent phagocytosis of apoptotic murine thymocytes by non-activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;387(1):58-63. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.06.121>.
229. Nunomura W, Denker SP, Barber DL, et al. Characterization of cytoskeletal protein 4.1R interaction with NHE1 (Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger isoform 1). *Biochem J*. 2012;446(3):427-435. <https://doi.org/10.1042/BJ20120535>.
230. Officioso A, Alzoubi K, Manna C, Lang F. Clofazimine induced suicidal death of human erythrocytes. *Cell Physiol Biochem*. 2015;37(1):331-341. <https://doi.org/10.1159/000430357>.
231. Ohvo-Rekila H, Ramstedt P, Leppimaki B. Cholesterol interaction with phospholipids in membranes. *Prog Lipid Res*. 2002;41(1):66-97. [https://doi.org/10.1016/s0163-7827\(01\)00020-0](https://doi.org/10.1016/s0163-7827(01)00020-0).
232. Oldenborg PA, Zheleznyak A, Fang YF, et al. Role of CD47 as a marker of self on red blood cells. *Science*. 2000;288(5473):2051-2054. <https://doi.org/10.1126/science.288.5473.2051>.
233. Oldenborg PA. CD47: a cell surface glycoprotein which regulates multiple functions of hematopoietic cells in health and disease. *ISRN Hematol*. 2013;2013:614619. <https://doi.org/10.1155/2013/614619>.
234. Oldenborg PA, Gresham HD, Lindberg FP. CD47-signal regulatory protein alpha (SIRP alpha) regulates Fc-gamma and complement receptor-mediated phagocytosis. *J Exp Med*. 2001;193(7):855-862. <https://doi.org/10.1084/jem.193.7.855>.
235. Olsson M, Oldenborg PA. CD47 on experimentally senescent murine RBCs inhibits phagocytosis following Fc-gamma receptor-mediated but not scavenger receptor-mediated recognition by macrophages. *Blood*. 2008;112(10):4259-4267. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-03-143008>.
236. Pagano M, Faggio C. The use of erythrocyte fragility to assess xenobiotic cytotoxicity. *Cell Biochem Funct*. 2015;33(6):351-355. <https://doi.org/10.1002/cbf.3135>.
237. Pandey KB, Rizvi SI. Markers of oxidative stress in erythrocytes and plasma during aging in humans. *Oxidative Med Cell Longev*. 2010;3(1):2-12. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.1.10476>.
238. Penuela OA, Palomino F, Gómez LA. Erythropoietin reduces storage lesions and decreases apoptosis indices in blood bank red blood cells. *Brazilian J Hematol Hemother*. 2016;38(1):15-20. <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2015.10.003>.
239. Peter T, Bissinger R, Lang F. Stimulation of eryptosis by caspofungin. *Cell Physiol Biochem*. 2016;39(3):939-949. <https://doi.org/10.1159/000447802>.
240. Pretorius E. Erythrocyte deformability and eryptosis during inflammation, and impaired blood rheology. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2018;69(4):545-550. <https://doi.org/10.3233/CH-189205>.
241. Pretorius E, du Plooy JN, Bester J. A comprehensive review on eryptosis. *Cell Physiol Biochem*. 2016;39(5):1977-2000. <https://doi.org/10.1159/000447895>.
242. Pretorius E, Bester J, Vermeulen N, et al. Poorly controlled type 3 diabetes is accompanied by significant morphological and ultrastructural changes in both erythrocytes and in thrombin-generated fibrin: implications for diagnostics. *Cardiovasc Diabetol*. 2015;14:30. <https://doi.org/10.1186/s12933-015-0192-5>.
243. Pretorius E, du Plooy IN, Bester J. A comprehensive review on eryptosis. *Cell Physiol Biochem*. 2016;39(5):1977-2000. <https://doi.org/10.1159/000447895>.
244. Pretorius E, Swanepoel AC, Buys AV, et al. Eryptosis as a marker of Parkinson's disease. *Aging (Albany NY)*. 2014;6(10):788-819. <https://doi.org/10.18632/aging.100695>.
245. Pretorius E, Olumuyiwa-Akeredolu OO, Mbotwe S, Bester J. Erythrocytes and their role as health indicator: using structure in a patient-orientated precision medicine approach. *Blood Rev*. 2016;30(4):263-274. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2016.01.001>.
246. Qadri SM, Bauer I, Zelenak C, et al. Sphingosine but not sphingosine-1-phosphate stimulates suicidal erythrocyte death. *Cell Physiol Biochem*. 2011;28(2):339-346. <https://doi.org/10.1159/000331750>.

247. Qadri SM, Bissinger R, Solh Z, Oldenburg PA. Eryptosis in health and disease: a paradigm shift towards understanding the (patho)physiological implications of programmed cell death of erythrocytes. *Blood Rev.* 2017;31(6):349-361. <https://doi.org/10.1016/j.ble.2017.06.001>.
248. Qadri SM, Chen D, Schubert P, et al. Early gamma-irradiation and subsequent storage of red cells in SAG-M additive solution potentiate energy imbalance, microvesiculation and susceptibility to stress-induced apoptotic cell death. *Vox Sang.* 2017;112(5):480-483. <https://doi.org/10.1111/vox.12518>.
249. Qadri SM, Chen D, Schubert P, et al. Pathogen inactivation by riboflavin and ultraviolet light illumination accelerates the red blood cell storage lesion and promotes eryptosis. *Transfusion.* 2017;57(3):661-673. <https://doi.org/10.1111/trf.13959>.
250. Qadri SM, Donkor DA, Bhakta V, et al. Phosphatidylserine externalization and procoagulant activation of erythrocytes induced by *Pseudomonas aeruginosa* virulence factor pyocyanin. *J Cell Mol Med.* 2016;20(4):710-720. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12778>.
251. Qadri SM, Kuchercenko Y, Lang F. Beauvericin induced erythrocyte cell membrane scrambling. *Toxicology.* 2011;283(1):24-31. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.01.023>.
252. Qadri SM, Mahmud H, Lang E, et al. Enhanced suicidal erythrocyte death in mice carrying a loss of function mutation of the adenomatous polyposis coli gene. *J Cell Mol Med.* 2012;16(5):1085-1091. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2011.01387.x>.
253. Qiu CH, Miyake Y, Kaise H, et al. Novel subset of CD8(alpha)<sup>+</sup> dendritic cells localized in the marginal zone is responsible for tolerance to cell-associated antigens. *J Immunol.* 2009;182(7):4127-4136. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803364>.
254. Raiten DJ, Ashour FA. Iron: current landscape and efforts to address a complex issue in a complex world. *J Pediatr.* 2015;167(4 Pt): S3-S7. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2015.07.013>.
255. Repsold L, Joubert AM. Erythrosis: an erythrocytes suicidal type of cell death. *Biomed Res Int.* 2018;2018:9405617. <https://doi.org/10.1155/2018/9405617>.
256. Reyskens KM, Arthur JS. Emerging roles of the mitogen and stress activated kinases MSK1 and MSK2. *Front Cell Dev Biol.* 2016;4:56. <https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00056>.
257. Richards AL, Kapp LM, Wang X, et al. Regulatory T cell are dispensable for tolerance to RBC antigens. *Front Immunol.* 2016;7:348. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00348>.
258. Risso A, Ciana A, Achilli C, et al. Neocytolysis: one or many? A reappraisal and future perspectives. *Front Physiol.* 2014;5(54):1-10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00054>.
259. Risso A, Turello M, Biffoni F, Antonutto G. Red blood cell senescence and neocytolysis in humans after high altitude acclimatization. *Blood Cells Mol Dis.* 2007;38(2):83-92. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2006.10.161>.
260. Rodriguez-Cuenca S, Pellegrinelli V, Campbell M, et al. Sphingolipids and glycerophospholipids – the “ying and yang” of lipotoxicity in metabolic diseases. *Prog Lipid Res.* 2017;66:14-29. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2017.01.002>.
261. Romero PJ, Romero EA. Effect of cell ageing on Ca<sup>2+</sup> influx into human red cells. *Cell Calcium.* 1999;26(3-4):131-137. <https://doi.org/10.1054/ceca.1999.0063>.
262. Rossait J, Zarbock A. Pathogenesis of multiple organ failure in sepsis. *Crit Rev Immunol.* 2015;35(4):277-291. <https://doi.org/10.1615/critrevimmunol.2015015461>.
263. Rossig L, Fichtlseherer B, Breitschopf K, et al. Nitric oxide inhibits caspase-3 by S-nitrosation *in vivo*. *J Biol Chem.* 1999;274(11):6823-6826. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.11.6823>.
264. Sarang Z, Madi A, Koy C, et al. Tissue transglutaminase (TG2) facilitates phosphatidylserine exposure and calpain activity in calcium-induced death of erythrocytes. *Cell Death Differ.* 2007;14(19):1842-1844. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402193>.
265. Shin JH, Lim KM, Noh JY, et al. Lead-induced procoagulant activation of erythrocytes through phosphatidylserine exposure may lead to thrombotic diseases. *Chem Res Toxicol.* 2007;20(1):38-43. <https://doi.org/10.1021/tx060114+>.
266. Shirnaka T, Nakayama T, Fukumoto N, et al. Cell surface-anchored SH-pSOX/CXC chemokine ligand 16 mediates firm adhesion of CXC chemokine receptor 6-expressing cells. *J Leukoc Biol.* 2004;75(2):267-274. <https://doi.org/10.1189/jlb.1003465>.
267. Shan F, Yang R, Ji T, Jiao F. Vitamin C inhibits aggravated eryptosis by hydrogen peroxide in glucose-6-phosphated dehydrogenase deficiency. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39(4):1453-1462. <https://doi.org/10.1159/000447848>.
268. Signoretto E, Castagna M, Lang F. Stimulation of eryptosis, the suicidal erythrocyte death by piceatannol. *Cell Physiol Biochem.* 2016;38(6):2300-2310. <https://doi.org/10.1159/000445584>.
269. Signoretto E, Ziede J, Bissinger R, et al. Triggering of suicidal erythrocyte death by piazopamid. *Cell Physiol Biol Chem.* 2016;38(3):926-938. <https://doi.org/10.1159/000443045>.
270. Siraskar B, Ballal A, Bobbala D, et al. Effect of amphotericin B on parasitemia and survival of plasmodium berghei-infected mice. *Cell Physiol Biochem.* 2010;26(3):347-354. <https://doi.org/10.1159/000320558>.
271. Sola E, Vaya A, Corella D, et al. Erythrocyte hyperaggregation in obesity: determining factors and weight loss influence. *Obesity (Silver Spring).* 2007;15(8):2128-2134. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.253>.
272. Sola E, Vava A, Martinez M, et al. Erythrocyte membrane phosphatidylserine exposure in obesity. *Obesity (Silver Spring).* 2009;17(2):318-323. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.499>.
273. Soma P, Pretorius E. Interplay between ultrastructural findings and atherothrombotic complications in type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol.* 2015;14:96. <https://doi.org/10.1186/s12933-015-0261-9>.
274. Steevens TA, Meyaard L. Immune inhibitory receptors: essential regulators of phagocyte function. *Eur J Im-*



- munol.* 2011;41(3):575-587. <https://doi.org/10.1002/eji.201041179>.
275. Stein RS. The role of erythropoietin in the anemia of myelodysplastic syndrome. *Clin Lymphoma.* 2003;4(Suppl. 1):S36-S40. <https://doi.org/10.3816/clm.2003.s.007>.
276. Steinman RM. Decisions about dendritic cells: past, present and future. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:1-22. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-100311-102839>.
277. Stijlemans B, Cnops J, Naniima P, et al. Development of a pH rodo-based assay for the assessment of in vitro and in vivo erythrophagocytosis during experimental trypanosomiasis. *PLoS Neg Trop Dis.* 2015;9(3): e0003561. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003561>.
278. Tada K, Tanaka M, Hanayama R, et al. Tethering of apoptotic cells to phagocytes through binding of CD47 to Src homology 2 domain-bearing protein tyrosine phosphatase substrate-1. *J Immunol.* 2003;171(11):5718-5726. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.11.5718>.
279. Tan X, Shi J, Fu Y, et al. Role of erythrocytes and platelets in the hypercoagulable status in polycythemia vera through phosphatidylserine exposure and microparticle generation. *Thromb Haemost.* 2013;109(6):1025-1032. <https://doi.org/10.1160/TH12-11-0811>.
280. Theurl I, Hilgendorf I, Nairz M, et al. On-demand erythrocyte disposal and iron recycling requires; transient macrophages in the liver. *Nat Med.* 2016;22(8):945-951. <https://doi.org/10.1038/nm.4146>.
281. Tiffert T, Daw N, Etzion Z, et al. Age decline in the activity of the Ca<sup>2+</sup>-sensitive K<sup>+</sup> channels of human red blood cells. *J Gen Physiol.* 2007;129(5):429-436. <https://doi.org/10.1085/jgp.200709766>.
282. Unruh D, Srinivasan R, Benson T, et al. Red blood cell dysfunction induced by high-fat diet: potential implications for obesity-related atherosclerosis. *Circulation.* 2015;132:1898-1908. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017313>.
283. Uscinska E, Idzkowska E, Sobkowicz B, et al. Anemia in intensive cardiac care unit patients – an underestimated problem. *Adv Med Sci.* 2015;60(2):307-314. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2015.06.002>.
284. Vaysse J, Vassy R, Edilche V, et al. Some characteristics of human red blood cells separated according to their size: a comparison with density-fractionated red blood cells. *Am J Hematol.* 1988;28(4):232-238. <https://doi.org/10.1002/ajh.2830280405>.
285. Vaysse J, Gatlegno L, Bradier D, Aminoff D. Adhesion and erythrophagocytosis of human senescent erythrocytes by autologous monocytes and their inhibition by beta-galactosyl derivatives. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1986;83(5):1339-1343. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.5.1339>.
286. Velasquez FC, Mate S, Bakas L, Herlax V. Induction of eryptosis by low concentrations of *E. coli* alpha-hemolysin. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1848(11 Pt A):2779-88. <https://doi.org/10.1016/j.bbame.2015.08.012>.
287. Vetschreck N, Offermanns S. Mammalian G proteins and their cell type specific functions. *Physiol Rev.* 2005;85(4):1159-1204. <https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2005>.
288. Verhoeven AJ, Hilarius PM, Dekkers DW, et al. Prolonged storage of red blood cells affects aminophospholipid translocase activity. *Vox Sang.* 2006;91(3):244-251. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2006.00822.x>.
289. Vittori D, Vota D, Nesse A. Erythrocyte: programmed cell death. Anemia. Ed. D.S. Silverberg. [Published online, 2012 February 29]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/anemia/erythrocyte-programmed-cell-death>.
290. Voelkl I, Aizouhi K, Mamar AK, et al. Stimulation of suicidal erythrocyte death by increased extracellular phosphate concentration. *Kidney Blood Press Res.* 2013;38(1):42-51. <https://doi.org/10.1159/000355752>.
291. von Haehling S, Jankowska EA, Ponikowski P, Anter SD. Anemia in heart failure: an overview of current concepts. *Futur Cardiol.* 2011;7(1):119-129. <https://doi.org/10.2217/fca.10.110>.
292. Waisman A, Lukas D, Clausen BE, Yogev N. Dendritic cells as gatekeepers of tolerance. *Semin Immunopathol.* 2017;39(2):153-163. <https://doi.org/10.1007/s00281-016-0583-z>.
293. Walker B, Towhid ST, Schmid E, et al. Dynamic adhesion of erythrocytes to immobilized platelets via platelet phosphatidylserine receptors. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2014;306(3): C291-C297. <https://doi.org/10.1152/ajp-cell.00318.2013>.
294. Wandersee NJ, Olson SC, Holzhauer SL, et al. Increased erythrocyte adhesion in mice and humans with hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis. *Blood.* 2004;103(2):710-716. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-02-0492>.
295. Wang K, Mahmud H, Föller M, et al. Lipopeptides in the triggering of erythrocyte cell membrane scrambling. *Cell Physiol Biochem.* 2008;22(5-6):381-386. <https://doi.org/10.1159/000187116>.
296. Wang KK. Calpain and caspase: can you tell the difference? *Trends Neurosci.* 2000;23(2):20-26. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(99\)01536-2](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(99)01536-2).
297. Wautier MP, El Nemer V, Gane P, et al. Increased adhesion to endothelial cells of erythrocytes from patients with polycythemia vera is mediated by laminin alpha5 chain and Lu/BCAM. *Blood.* 2007;110(3):894-901. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-10-048298>.
298. Wei M, Lu L, Sui W, et al. Inhibition of GLUTs by WZB117 mediates apoptosis in blood-stage Plasmodium parasites by breaking redox balance. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018;503(2):1154-1159. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.06.134>.
299. Wesseling MC, Wagner-Britz L, Nguyen DB, et al. Novel insights in the regulation of phosphatidylserine exposure in human red blood cells. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39(5):1941-54. <https://doi.org/10.1159/000447891>.
300. Wesseling MC, Wagner-Britz L, Boukhoudou F, et al. Measurements of intracellular Ca<sup>2+</sup> content and phosphatidylserine exposure in human red blood cells: methodological issues. *Cell Physiol Biochem.* 2016;38(6):2414-2425. <https://doi.org/10.1159/000445593>.
301. Wesseling MC, Wagner-Britz L, Huppert H, et al. Phosphatidylserine exposure in human red blood cells depend-

- ing on cell age. *Cell Physiol Biochem*. 2016;38(4):1376-90. <https://doi.org/10.1159/000443081>.
302. Wiewiora M, Piecuch J, Sedek L, et al. The effects of obesity on CD47 expression in erythrocytes. *Cytometry B Clin Cytom*. 2017;92(6):485-491. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21232>.
303. Wu X, Yao Z, Zhao L, et al. Phosphatidylserine on blood cells and endothelial cells contributes to the hypercoagulable state in cirrhosis. *Liver Int*. 2016;36(12):1800-1810. <https://doi.org/10.1111/liv.13167>.
304. Yang K, Du C, Wang X, et al. Indoxyl sulfate induces platelet hyperactivity and contributes to chronic kidney disease-associated thrombosis in mice. *Blood*. 2017;129(19):2667-2679. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-10-744060>.
305. Yang L, Yatomi Y, Miura Y, et al. Metabolism and functional effects of sphingolipids in blood cells. *Br J Haematol*. 1999;107(2):282-293. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1999.01697.x>.
306. Yoshida T, Prudent M, D'Alessandro A. Red blood cells storage lesion: causes and potential clinical consequences. *Blood Transfus*. 2019;17(1):27-52. <https://doi.org/10.2450/2019.0217-18>.
307. Zelenak C, Eberhard M, Jilani K, et al. Protein kinase CK I-alpha regulates erythrocyte survival. *Cell Physiol Biochem*. 2012;29(1-2):171-180. <https://doi.org/10.1159/000337598>.
308. Zelenak C, Föller M, Velic A, et al. Proteome analysis of erythrocytes lacking AMP-activated protein kinase reveals a role of PAK 2 kinase in eryptosis. *J Proteome Res*. 2011;10(4):1690-7. <https://doi.org/10.1021/pr101004j>.
309. Zierle J, Bissinger R, Bouguerra G, et al. Triggering of suicidal erythrocyte death by regorafenib. *Cell Physiol Biochem*. 2016;38(1):160-172. <https://doi.org/10.1159/000438618>.
310. Zivot A, Lipton JM, Narla A, Blanc L. Erythropoiesis: insights into pathophysiology and treatments in 2017. *Mol Med*. 2018;24(1):11-15. <https://doi.org/10.1186/s10020-018-0011-z>.
311. Zwaal RF, Schroit AJ. Pathophysiologic implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. *Blood*. 1997;89(4):1121-1132.

♦ Информация об авторах

Владимир Иванович Ващенко — д-р биол. наук, заведующий отделом Центра (крови и тканей). ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова», Санкт-Петербург. E-mail: Vladimir-vaschenko@yandex.ru.

Владимир Николаевич Вильянинов — канд. мед. наук, начальник Центра (крови и тканей). ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова», Санкт-Петербург. E-mail: vilyaninov@mail.ru.

♦ Information about the authors

Vladimir I. Vaschenko — Dr. Biol. Sci., Chief, Lab. Department Centre of Blood and Tissues. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: Vladimir-vaschenko@yandex.ru.

Vladimir N. Vilyaninov — PhD, Head, Centre of Blood and Tissues. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: vilyaninov@mail.ru.