

КЛІТИННІ МЕХАНІЗМИ ЕРИТРОДІЕРЕЗУ

Т. Король

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: tetiana.korol10@gmail.com*

У нормі еритродієрез перебуває в динамічній рівновазі з процесом еритропоєзу, а отже, є одним із чинників, який забезпечує відносно постійну кількість еритроцитів у кров'яному руслі. Руйнування зазнають фізіологічно старі, пошкоджені та нежиттєздатні еритроцити, а також еритроцити, які утворилися під час стресового еритропоєзу. Кліренс еритроцитів є селективним процесом. Із кровотоку насамперед вилучаються ті клітини, які втратили здатність до деформації. Здатність еритроцитів деформуватися залежить від форми клітин, в'язкості цитоплазми та механічних властивостей мембрани. Старі та змінені еритроцити є досить ригідними, а тому затримуються у вузьких капілярах і венозних синусах печінки й селезінки. Окрім того, макрофаги печінки та селезінки фагоцитують еритроцити, які на своїй поверхні експонують сигнальні молекули «з'їж мене». Експозиція фосфатидилсерину на зовнішній поверхні еритроцитів призводить до їхнього вилучення з кровотоку клітинами Купфера й іншими мононуклеарними фагоцитами. Під час ініціації еритрофагоцитозу фосфатидилсерин зовнішнього ліпідного шару плазматичної мембрани еритроцитів безпосередньо взаємодіє з рецепторами Stabilin-2, Tim-1, Tim-4 або CD300 макрофагів. Інтегрини макрофагів $\alpha v \beta 3$ та $\alpha v \beta 5$, а також рецептор Mer тирозинкінази опосередковано взаємодіють з фосфатидилсерином поверхні еритроцитів за допомогою розчинних протеїнів MFG-E8, Gas 6 і протеїну S. Кластеризація протеїну смуги 3 мембрани еритроцитів спричиняє зв'язування природних антитіл, а опсонізація еритроцитів за допомогою C3b підсилює цей процес і сприяє розпізнаванню таких клітин макрофагами червоної пульпи селезінки. У старіючих еритроцитах пригнічується утворення комплексу CD47-SIRP α (сигнал «не їж мене»), який гальмує їхній фагоцитоз, а відтак – з'являється додатковий стимул для захоплення еритроцитів макрофагами селезінки та печінки.

Мета огляду – описати механізми еритрофагоцитозу й молекулярні детермінанти старіння і загибелі еритроцитів, у тому числі ериптозу та нецитолізу, висвітлити факти й суперечності, наявні на сучасному етапі вивчення цього питання.

Ключові слова: еритроцит, еритродієрез, фагоцитоз, ериптоз, фосфатидилсерин, внутрішньоклітинна концентрація Ca^{2+}

Перелік основних скорочень:

CD47 – кластер диференціації 47 (Cluster of Differentiation 47), поверхневий білок еритроцитів, ліганд для SIRP α рецептора макрофагів.

SIRP α – сигнальний регуляторний протеїн альфа (Signal regulatory protein alpha), регуляторний мембранний глікопротеїн, належить до родини SIRP, рецептор макрофагів, який взаємодіє із CD47 еритроцитів.

PS – фосфатидилсерин (Phosphatidylserine), негативно заряджений фосфоліпід внутрішнього моношару плазматичної мембрани клітин.

Рецептори макрофагів, які безпосередньо взаємодіють із фосфатидилсерином плазматичної мембрани еритроцитів:

Stabilin-2 – Стабілін-2;

Tim-1 – Т-клітинний імуноглобулін і муциновий домен 1 (T-cell immunoglobulin and mucin domain 1, також відомий як HAVCR1 – Hepatitis A virus cellular receptor);

Tim-4 – Т-клітинний імуноглобулін і муциновий-домен-вмісна молекула (T-cell membrane protein 4, також відомий як TIMD-4 – T-cell immunoglobulin and mucin domain containing 4);

BA11 – специфічний для мозку інгібітор ангіогенезу 1 (Brain-specific angiogenesis inhibitor 1);

CD300 receptors – CD300 рецептори

Рецептори макрофагів, які опосередковано взаємодіють із фосфатидилсерином плазматичної мембрани еритроцитів:

$\alpha v \beta 3$ – інтегрин, взаємодіє з адаптерною молекулою MFG-E8;

$\alpha v \beta 5$ – інтегрин, взаємодіє з адаптерною молекулою MFG-E8;

рецептор Мер тирозинкінази (MerTK) – Proto-oncogene tyrosine-protein kinase MER, взаємодіє із адаптерними молекулами Gas 6 та Protein S

Розчинні білки (адаптерні молекули), які зв'язують фосфатилсерин плазматичної мембрани еритроцитів із рецепторами макрофагів:

MFG-E8 – глобулярний білок молочного жиру (Milk fat globule-EGF factor 8 protein), також відомий як лактадерин, інтегрин-зв'язуючий глікопротеїн;

Gas 6 – продукт специфічного гена затримки росту GAS-6 (Growth arrest specific 6), ліганд для рецептора тирозинкінази MerTK;

Protein S – отриманий зі сироватки протеїн S, ліганд для рецептора тирозинкінази MerTK

Тривалість життя еритроцитів людини у середньому становить 100–120 днів. Це період, коли еритроцити перебувають у периферичній крові, циркулюють у судинах від моменту їхнього надходження у кровотік із червоного кісткового мозку до руйнування макрофагами печінки та селезінки.

Зрілі еритроцити поступово старіють і вилучаються із циркуляції. Старіння еритроцитів – це фізіологічний процес, однак, уніфікованого погляду на молекулярні детермінанти старіння та загибелі еритроцитів усе ще немає [50].

Руйнування зазнають: 1) фізіологічно старі еритроцити, термін перебування яких у циркуляції наближається до 120 днів; 2) ушкоджені й інфіковані еритроцити; 3) молоді еритроцити, які були утворені за умов гіпоксії, після повернення до умов нормоксії.

Під час старіння еритроцита відбувається низка структурних і функціональних змін, які є ознаками старіння, або маркерами старіння. Наприклад, абсолютним маркером віку еритроцитів людини та кількох інших видів ссавців є співвідношення протеїнів 4.1a / 4.1b. Структурний протеїн 4.1 з'єднує спектр мембранного цитоскелету з внутрішньоклітинною поверхнею плазматичної мембрани еритроцитів. Цей протеїн синтезується у формі 4.1b. В еритроциті відбувається його модифікація способом деамідування двох аспарагінових залишків (Asn478 та Asn502), причому деамідування Asn478 здійснюється практично одразу після синтезу протеїну, натомість деамідування Asn502 – пізніше, у процесі старіння еритроцита. Унаслідок цього протеїн 4.1b перетворюється до форми 4.1a. Саме тому протеїн 4.1 вважають «молекулярним годинником» еритроцитів [17].

У процесі старіння еритроцитів знижується активність внутрішньоклітинних ферментів, порушується кальцієвий гомеостаз, зменшується вміст вуглеводних компонентів плазматичної мембрани (глюкози, галактози, манози тощо), посилюються процеси

десіалювання мембранних глікокон'югатів, унаслідок чого зменшується поверхневий заряд еритроцитів, відбувається окисна модифікація структур клітини, з'являються антитіла до компонентів мембрани тощо [79].

Фізіологічний процес руйнування еритроцитів називають еритродієрезом. Він відбувається: 1) всередині судин (внутрішньосудинний гемоліз) або 2) внаслідок захоплення еритроцитів макрофагами селезінки, купферівськими клітинами печінки чи макрофагами кісткового мозку (внутрішньоклітинний гемоліз) після рецептор-опосередкованого розпізнавання їх безпосередньо або за допомогою опсонинів. У нормі на внутрішньоклітинний гемоліз припадає 80–90 %, і лише 10–20 % становить внутрішньосудинне руйнування еритроцитів [4].

Внутрішньосудинний гемоліз еритроцитів

Під час внутрішньосудинного гемолізу руйнування еритроцита відбувається у судинному руслі з вивільненням його вмісту у плазму крові внаслідок механічної травми, фіксації на поверхні еритроцита компонентів системи комплементу, дії ендотоксинів тощо.

Внутрішньосудинний гемоліз – це комплемент-залежний процес руйнування еритроцитів, які на своїй поверхні містять IgM (рідше IgG), у кров'яному руслі, а також результат фізичного пошкодження еритроцитів унаслідок турбулентного руху крові, під час фазових переходів і під час інвазії паразитами (малярія, бабезіоз) [5]. Зазвичай його спостерігають під час ушкодження тканин (травми), інфікування гемолітичними мікроорганізмами, захворювань, зокрема, спадкових і набутих анемії.

У процесі внутрішньосудинного гемолізу еритроцити проходять кілька послідовних стадій: передгемолітична стадія – сферуляція еритроцитів; осмотичний гемоглобіноліз – розпад і вихід частини гемоглобіну (лабільно зв'язаного гемоглобіну) у плазму крові внаслідок того, що еритроцит досягнув критичного об'єму, а саме 146 % від нормального (87 мкм³) об'єму дискоцита; хімічний гемоглобіноліз – зміна хімічного складу (електрохімічних і колоїдно-осмотичних властивостей) еритроцитів із повним розпадом гемоглобіну; остаточне руйнування клітинної структури [1].

Унаслідок руйнування еритроцитів безпосередньо у кров'яному руслі більша частина гемоглобіну потрапляє у плазму крові, де і взаємодіє з гаптоглобіном. Комплекс гаптоглобіну з вільним гемоглобіном перешкоджає його проникненню крізь фільтруючу мембрану у клубочках нефронів, після чого цей комплекс поглинають тканинні макрофаги за участю scavenger-рецепторів CD163 [66, 95].

Експресія CD163 виявлена у моноцитах (низький рівень), а також у макрофагах червоної пульпи селезінки та клітинах Купфера печінки (високий рівень) [89, 114]. В еритроцитах людини CD163 був ідентифікований як рецептор ендодитозу, який зв'язує лише комплекс гаптоглобіну з гемоглобіном [56].

Виникає запитання: чи є альтернативні шляхи захисту організму від токсичної дії позаклітинного гемоглобіну, окрім CD163-опосередкованого захоплення макрофагами його комплексу з гаптоглобіном? Особливо це стосується випадків кліренсу вільного гемоглобіну в умовах важкого гемолізу, коли запаси гаптоглобіну швидко вичерпуються. Як з'ясувалося, виявлено безпосередню взаємодію CD163 макрофагів людини з гемоглобіном незалежно від гаптоглобіну [94]. Розчинний CD163 (sCD163) у плазмі крові утворює комплекс із гемоглобіном, який пізніше взаємодіє з IgG. Відбувається Fcγ-рецептор-опосередкований ендодитоз комплексу sCD163-Hb-IgG моноцитами та макрофагами [99].

Інша частина гемоглобіну у плазмі крові окиснюється до метгемоглобіну та розпадається на гем і глобін. Протеїн гемопексин зв'язує гем у плазмі крові та транспортує його

у печінку, тим самим запобігаючи виведенню гемму зі сечею. Комплекс гемопексину з гемом розпізнає рецептор CD91 / LRP1 на поверхні гепатоцитів. Далі цей комплекс вилучається з кровотоку завдяки рецептор-опосередкованому ендцитозу. Також комплекс гемопексин-гем фагоцитують макрофаги селезінки, печінки та кісткового мозку. Крім гепатоцитів, CD91 / LRP1 експресується на поверхні кількох інших типів клітин: макрофагів, нейронів і синцитіотрофобластів. Роль цих типів клітин, що експресують LRP1, і можливий внесок альтернативних рецепторів у кліренс комплексу гемму з гемопексином потребують подальшого ретельного вивчення [96].

Внутрішньоклітинний гемоліз еритроцитів. Ериптоз

Основна маса еритроцитів як за фізіологічних умов, так і під час більшості патологічних станів зазнає внутрішньоклітинного гемолізу, внаслідок якого і гем, і глобін надходять у цитоплазму клітин мононуклеарної фагоцитарної системи після руйнування фагоцитованих ними еритроцитів [4].

На сьогодні немає єдиної думки щодо того, як макрофаги печінки та селезінки визначають, який еритроцит фагоцитувати, а який «відремонтувати» і повернути у кровотік. Загалом у дослідженнях важко ідентифікувати еритроцити, призначені для елімінації *in vivo*, оскільки ті клітини, які на своїй поверхні несуть молекулярні сигнали для вилучення із кров'яного русла, швидше за все, фагоцитують макрофаги, а тому вони не будуть доступними для аналізу. Щоденний кліренс еритроцитів становить лише 0,8 % на добу, у циркуляції залишається невелика кількість клітин, які на своїй поверхні несуть молекулярні сигнали для ініціації фагоцитозу макрофагами у будь-який момент відбору проби крові. Тому більшість гіпотез щодо ймовірних молекулярних сигналів, які запускають кліренс еритроцитів, ґрунтуються на роботах *in vitro* або на даних, одержаних під час вивчення моделей тварин [25].

Припускають, що молекулярні сигнали елімінації еритроцитів не накопичуються поступово, а навпаки, виникають як швидкий і нелінійний каскад подій на термінальній стадії процесу старіння, ймовірно, незадовго до того, як еритроцити будуть захоплені макрофагами [36].

У людини все ще дискутується питання внеску печінки та селезінки в еритрофагоцитоз [15, 16]. Захоплення еритроцитів макрофагами печінки, очевидно, більшою мірою пов'язане зі стресом або із запальними станами [97, 101].

Більшість еритроцитів руйнують макрофаги селезінки. Частина капілярів впадає у венозні пазухи (синуси) селезінки, проте більшість із них безпосередньо відкриваються у червону пульпу органа, де кров виходить у міжсинусовий простір. Еритроцити, які вільно вийшли з капілярів у червону пульпу, «протискуються» назад до венозних пазух крізь вузький щілиноподібний простір між ендотеліоцитами. Нормальні еритроцити легко деформуються та потрапляють до венозних пазух. Натомість, старі та змінені еритроцити застоюються у міжсинусовому просторі та руйнуються макрофагами.

Здатність еритроцитів деформуватися залежить від форми клітин, в'язкості цитоплазми та механічних властивостей мембрани. Форма двоввігнутого диска є оптимальною для того, щоб еритроцит міг деформуватись, оскільки забезпечує максимальну поверхню клітини при заданому об'ємі та можливість змінювати форму без зміни об'єму еритроцита.

Здатність еритроцитів до деформації надзвичайно важлива для реалізації їхніх реологічних властивостей і транспортних функцій крові під час циркуляції у капілярах. Для цього об'єм еритроцита людини має утримуватися на рівні приблизно 55–60 % від макси-

мального сферичного об'єму, який могла би охопити площа його мембрани (Optimal-volume-ratio range, OVR). Те, наскільки об'єм еритроцита буде збережений у таких межах, визначає тривалість його перебування у кровообігу [69]. Збільшення об'єму еритроцита в 1,7 разу понад його нормальний об'єм призводить до гемолізу. Якщо значення OVR вище 65 %, то спостерігають набряк еритроцита, а якщо нижче 50 % – його дегідратацію [27, 31, 32, 43, 65, 68].

Найбільше значення у виникненні змін об'єму еритроцита мають поступове зниження активності натрієвої помпи, а також зниження інтенсивності гліколізу та зменшення кількості молекул АТФ. У процесі старіння еритроцита кількість натрієвих pomp у перерахунку на клітину зменшується до 70 %. Окрім того, відбувається зменшення трансмембранних градієнтів Na^+ та K^+ і зниження рівня АТФ до 40 % [37, 67, 70].

За відсутності фізичного ушкодження тривалість життя еритроцита обмежується розвитком старіння. У старіючому еритроциті зменшується кількість утвореної в ньому АТФ, а відтак порушуються процеси відновлення форми еритроцита, захист клітинних компонентів від окиснення, транспортування катіонів. Деструктивні зміни у плазматичній мембрані еритроцита призводять до зростання її проникності, а зменшення кількості утвореної в ньому АТФ – до порушення трансмембранного транспортування іонів. З припиненням обміну речовин в еритроциті він циркулює у крові не більше 24 год. Старий еритроцит більш чутливий до змін складу позаклітинного середовища, а тому легше руйнується.

До настання фізіологічного старіння еритроцити можуть зазнавати пошкоджень, унаслідок чого активуються механізми їхньої запрограмованої смерті, або ериптозу. На відміну від старіння, яке триває майже 120 днів, ериптоз розвивається упродовж <1 год до 48 год [61]. Ознаками ериптозу є зморщування клітини, везикуляція мембрани, а також перерозподіл ліпідів у плазматичній мембрані, який призводить до експонування фосфатидилсерину на її зовнішній поверхні. Фізіологічне значення ериптозу полягає у пришвидшеному кліренсі пошкоджених та інфікованих, наприклад, збудником малярії, еритроцитів.

У кров'яному руслі еритроцити найчастіше зазнають пошкоджень у капілярах легень унаслідок оксидативного стресу або в судинах нирок в умовах гіперосмотичного середовища. Ериптоз також зумовлюють різні ксенобіотики.

Фізіологічне значення ериптозу полягає у вилученні дефектних еритроцитів до настання їхнього гемолізу, тому що гемоглобін, який виходить з еритроцитів під час їхнього внутрішньосудинного руйнування, закупорює ниркові каналці нефронів у процесі фільтрування крові в судинних клубочках.

Серед еритроцитів різних вікових популяцій, одержаних від здорових добровольців, ериптоз виявився найбільш інтенсивним у фракції найстаріших клітин. Схильність до ериптозу зростає з віком еритроцитів, і цей ефект певною мірою можна пояснити посиленою чутливістю старих клітин до оксидативного стресу [42].

Активатори ериптозу реалізують свою дію за допомогою зовнішніх і внутрішніх механізмів. У першому випадку загибель еритроцитів ініціює зв'язування Fas-ліганда з Fas-рецептором (CD95) на мембрані еритроцита й утворення Fas-асоційованого комплексу з доменом смерті FADD, який активує прокаспазу-8 і у наступну чергу – каспазу-3. У старіючих еритроцитах або еритроцитах, які зазнали впливу оксидативного стресу, відбувається безпосереднє активування каспази-3, внаслідок чого знижується активність амінофосфоліпід-трансферази (фліпази), яка підтримує функціональну асиметрію мембранних фосфоліпідів, а відтак – екстерналізація фосфатидилсерину і каспаза-3-опосередкована деградація протеїну смуги 3 [59, 77]. Цей протеїн виконує функцію іонного обмінника (Cl⁻/

HCO_3^-), якоря для закріплення цитоскелету в мембрані та сайту для зв'язування ферментів гліколізу [3, 22]. В еритроцитах із виснаженими запасами АТФ ініціація ериптозу пов'язана з активацією протеїнкінази С і фосфорилуванням неселективних катіонних каналів, що призводить до їхнього відкриття і надходження іонів кальцію в клітину.

Ключовими подіями ериптозу є збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} , порушення взаємодії цитоскелету з плазматичною мембраною, втрата плазматичної мембрани через утворення мікроезистул, зморщування клітин, поява у зовнішньому ліпідному шарі фосфатидилсерину (рис. 1). Термінальною стадією ериптозу є еритрофагоцитоз.

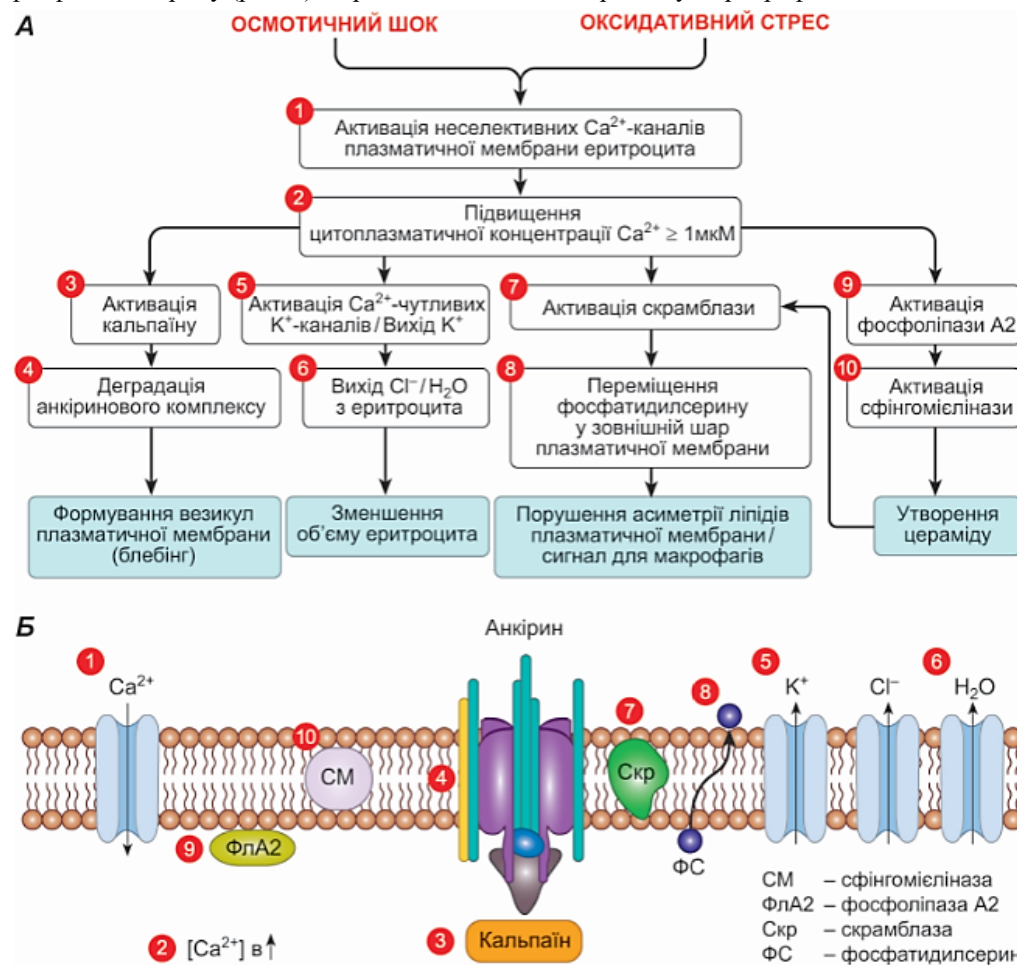


Рис. 1. Механізми ериптозу: А – блок-схема основних подій ериптозу; Б – роль плазматичної мембрани та ферментів у розвитку основних подій ериптозу. Джерело: рисунок автора

Тригери та молекулярні механізми внутрішньоклітинного руйнування еритроцитів

Захоплення еритроцитів макрофагами здійснюється внаслідок: 1) зміни поверхневих властивостей еритроцитів, наприклад, фіксації імуноглобулінів, експозиції фосфатидилсерину у зовнішньому ліпідному шарі плазматичної мембрани, для яких на макрофагах є специфічні рецептори ($\text{Fc}\gamma\text{R}$, Stabilin-2 , Tim-1 , Tim-4 тощо); 2) порушення здатності ери-

троцитів деформуватися і проходити фільтраційним руслом селезінки. Вилучення еритроцитів із кров'яного русла відбувається завдяки Ca^{2+} -залежним і рецептор-опосередкованим механізмам.

Порушення внутрішньоклітинного кальцієвого гомеостазу

Одним із чинників, який відіграє роль у старінні та руйнуванні еритроцитів, є збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} .

Загальна внутрішньоклітинна концентрація кальцію становить 5,7 мкМ і включає кальцій, зв'язаний з протеїнами, фосфоліпідами та неорганічним фосфатом, а також вільний, або іонізований, Ca^{2+} [14]. За фізіологічних умов внутрішньоклітинна концентрація іонізованого кальцію в еритроцитах людини становить 30–60 нМ. Значний градієнт між цитоплазмою еритроцитів і плазмою крові, в якій концентрація вільного Ca^{2+} дорівнює приблизно 1,8 мМ, підтримується завдяки надзвичайно низькій базальній проникності плазматичної мембрани для Ca^{2+} . Ще одним механізмом для забезпечення низької внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} є функціонування потужної Ca^{2+} -помпи плазматичної мембрани еритроцита [13, 102].

Порушення транспортування Ca^{2+} в еритроцит чи його виведення з клітини Ca^{2+} -помпою призводить до надмірного зростання цитоплазматичної концентрації Ca^{2+} .

Як наслідок, відбувається активування Ca^{2+} -залежних білків: 1) фосфоліпази A2, 2) Ca^{2+} -залежних K^+ -каналів, 3) Ca^{2+} -чутливої скрамблази тощо.

Фактично, збільшення цитоплазматичної концентрації Ca^{2+} є тригером для реалізації механізмів ериптозу.

Надходження Ca^{2+} із зовнішньоклітинного середовища в еритроцит забезпечують Ca^{2+} -канали плазматичної мембрани. До них належать неселективні потенціалкерovanі катіонні канали, TRPC канали, потенціалкерovanі Ca^{2+} канали $\text{Ca}_v2.1$, потенціалкерovanі аніонні канали (VDAC), NMDA рецептор, механочутливі Piezo1 канали.

Неселективні потенціалкерovanі катіонні канали плазматичної мембрани еритроцитів є проникними для Ca^{2+} , проте їхня молекулярна ідентичність залишається невідомою [49].

В еритроцитах людини виявлено ще один тип неселективних потенціалкерovanих катіонних каналів TRPC6 [35], а також методами Western blot та фармакологічної взаємодії з ω -agatoxinTK (але не методом patch-clamp) одержано підтвердження наявності каналів $\text{Ca}_v2.1$ [107]. Потенціалкерovanі аніонні канали плазматичної мембрани еритроцитів VDAC теж є проникними для Ca^{2+} . Відомо, що проникність каналів VDAC1 для Ca^{2+} є досить низькою, а відношення коефіцієнтів проникності для Ca^{2+} та для Cl^- ($P_{\text{Ca}^{2+}}/P_{\text{Cl}^-}$) становить 0,02–0,38 [41].

У плазматичній мембрані еритроцитів шурів і клітин попередників еритроцитів людини лінії UT-7/Еро наявні NMDA рецептори (NMDAR) [75]. Ці рецептори є ліганд-керovanими неселективними катіонними каналами, крізь які у клітину проникають іони Ca^{2+} , K^+ та Na^+ , причому проникність для Ca^{2+} у 10 разів більша, ніж для двох інших катіонів. Згодом NMDAR було виявлено і в плазматичній мембрані циркулюючих еритроцитів здорових людей. Еритроцити у кров'яному руслі мають невелику кількість копій рецепторів, яка до того ж відрізняється у різних вікових популяціях клітин: більше у молодих та менше – у зрілих і старих еритроцитах. В еритроцитах людини активність NMDAR стимулюють гліцин і глутамат плазми крові, що може спричинити значний притік Ca^{2+} у клітини та зростання його цитоплазматичної концентрації [76].

Збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} в еритроциті частково зумовлене дефіцитом АТФ унаслідок зниження активності ферментів гліколізу та пентозофосфат-

ного шляху у старіючому еритроциті, а відтак – пригнічення первинно-активного виведення кальцію з клітини за допомогою Ca^{2+} -помпи.

Вичерпування запасів АТФ в еритроциті призводить до підвищення жорсткості плазматичної мембрани клітини через пригнічення фосфорилування спектрину. За нормальних умов фосфорилування білків мембранного скелету відбувається зворотна дисоціація комплексу спектрину з протеїном 4.1, а тому зменшується натяг плазматичної мембрани, що є необхідною умовою для деформації дискоцита під час проходження крізь вузький капіляр.

Унаслідок деформації еритроцита в капілярі активуються механочутливі іонні канали плазматичної мембрани Piezo1, які забезпечують надходження Ca^{2+} у його цитоплазму. Як наслідок, утворюється комплекс Ca^{2+} -кальмодулін (Ca^{2+} -CaM). Білок адуцин бере участь в утворенні зв'язку між спектрином і актином, а також має ділянки для приєднання кальмодуліну. Відбувається Ca^{2+} -CaM-опосередковане пригнічення активності адуцину та полімеризації актинових філаментів. До того ж взаємодія протеїну 4.1 з Ca^{2+} -CaM ініціює короткочасне та зворотне послаблення зв'язку спектринової мережі з білками біліпідного шару плазматичної мембрани, що в сукупності сприяє гнучкості еритроцита. Еритроцит набуває нормальної форми дискоцита, а Ca^{2+} -помпа плазматичної мембрани забезпечує вихід надлишку катіонів Ca^{2+} з еритроцита.

Отже, зменшення входу Ca^{2+} в еритроцит і його внутрішньоклітинної концентрації є необхідною умовою для відновлення зв'язку спектринової мережі з біліпідним шаром плазматичної мембрани з метою підтримання форми двоввігнутого диска. Проте зменшення функціональної активності Ca^{2+} -помпи плазматичної мембрани еритроцитів сприяє генеруванню механочутливими іонними каналами Piezo1 піків внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} і активації Ca^{2+} -залежних K^+ каналів (каналів Гардоса). Збільшення тривалості активного стану цих каналів зумовлене сповільненим виведенням катіонів Ca^{2+} з еритроцитів [28, 57].

Активация Ca^{2+} -залежних K^+ каналів відбувається за умов збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} до ≥ 1 мкМ [73]. Відкриття Ca^{2+} -залежних K^+ -каналів призводить до виходу з клітини катіонів K^+ , аніонів Cl^- та молекул H_2O , внаслідок чого зменшується об'єм еритроцита та підвищується в'язкість його внутрішньоклітинного вмісту [62]. Ущільнення еритроцитів людини під час їхнього старіння відбувається за безпосередньої участі каналів Гардоса [69].

Збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} через зменшену активність Ca^{2+} -помпи плазматичної мембрани еритроцита відбувається у міру накопичення клітиною HbA1c, який є одним із вікових маркерів еритроцитів [67].

За умов гіперглікемії спостерігають глікацію поверхневих білків еритроцита й гемоглобіну. У старих / глікованих еритроцитах розвивається оксидативний стрес, відбувається порушення асиметрії ліпідів у плазматичній мембрані та поява фосфатидилсерину в її зовнішньому ліпідному шарі, а також виникає підвищена схильність до гемолізу [21].

Підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} призводить до розвитку подій у двох напрямках. По-перше, порушується асиметрія фосфоліпідів плазматичної мембрани еритроцита з перерозподілом фосфатидилсерину у її зовнішній моношар. Макрофаги розпізнають фосфатидилсерин на поверхні еритроцита як сигнал до його руйнування.

По-друге, зростання цитоплазматичної концентрації Ca^{2+} спричиняє активацію кальпаїну та сприяє розщепленню протеїнів цитоскелету – актину, спектрину, анкїрину та протеїну смуги 4.1, а також протеїну смуги 3 і Ca^{2+} -помпи плазматичної мембрани [13]. У

такий спосіб відбувається дестабілізація клітинної мембрани еритроцитів, порушення взаємодії мембранного цитоскелету з біліпідним шаром.

Зменшення концентрації АТФ у старіючому еритроциті та підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} негативно впливають на функціонування ферментів, які підтримують асиметричний розподіл фосфоліпідів між зовнішнім і внутрішнім ліпідними шарами плазматичної мембрани.

У нормі фосфоліпиди, що містять нейтральний холін (фосфатидилхолін і сфінгомелін), перебувають у зовнішньому шарі плазматичної мембрани еритроцитів, тоді як заряджені фосфоліпиди, які мають у своєму складі аміногрупу (фосфатидилсерин, фосфатидилінозитол і фосфатидилетаноламін), є у внутрішньому ліпідному шарі мембрани.

Асиметричний розподіл фосфоліпідів у плазматичній мембрані еритроцитів підтримують ферменти: 1) АТФ-залежна фліпаза, яка транспортує аміновмісні фосфоліпиди із зовнішнього ліпідного шару у внутрішній; 2) АТФ-залежна флопаза, яка каталізує перенесення фосфоліпідів, що містять холін, у зворотному напрямку, від внутрішнього ліпідного шару до зовнішнього; 3) Ca^{2+} -залежна скрамблаза, яка забезпечує двостороннє транспортування фосфоліпідів за градієнтом концентрації для досягнення більш симетричного їхнього розподілу [44].

За умов високої концентрації Ca^{2+} у цитоплазмі еритроцитів відбувається активація скрамблази – ферменту, який каталізує переміщення фосфатидилсерину у зовнішній фосфоліпідний шар плазматичної мембрани [109], а також пригнічення фліпази. Поява у зовнішньому ліпідному шарі плазматичної мембрани негативно зарядженого фосфатидилсерину (цей процес також називають експозицією чи екстерналізацією фосфатидилсерину) є маркером порушення ліпідної асиметрії та ериптозу еритроцитів, а також сигналом для елімінації таких еритроцитів макрофагами. Роль ферменту флопази у порушенні мембранної асиметрії ліпідів ще остаточно не з'ясована. Ймовірно, він може бути залучений до швидкого переміщення фосфатидилсерину в зовнішній ліпідний моношар плазматичної мембрани еритроцитів [12, 44].

Ca^{2+} -залежний фермент фосфоліпаза А2 ініціює деградацію мембранних фосфоліпідів з утворенням арахідонової кислоти й фактора активації тромбоцитів. Посилює цей процес осмотичний шок, унаслідок чого фактор активації тромбоцитів призводить до розпаду сфінгомеліну плазматичної мембрани з утворенням кераміду [63, 64]. Керамід сприяє Ca^{2+} -чутливому скрамблінгу ліпідів еритроцитарної мембрани [58, 60].

Ериптоз значною мірою також пов'язаний з активацією Ca^{2+} -залежного μ -кальпаїну – цистеїнової ендопептидази, яка призводить до деградації протеїнів, зокрема, цитоскелету, порушення зв'язку між мембранним цитоскелетом і плазматичною мембраною еритроцитів, що сприяє вивільненню мікровезикул [82]. На думку Knowles та співавт., цитоскелет еритроцитів не руйнується, а втягується всередину клітини під час деформації мембрани під напругою зсуву у кровотоці [54]. Це, очевидно, є причиною вивільнення мікровезикул, позбавлених білків цитоскелету.

Везикуляція плазматичної мембрани еритроцитів

Порушення асиметрії фосфоліпідів у плазматичній мембрані еритроцитів і екстерналізація фосфатидилсерину є основними чинниками у формуванні та вивільненні везикул [44].

Макрофаги селезінки забезпечують кліренс внутрішньоеритроцитарних паразитів чи аномальних включень, які накопичуються в еритроциті під час його циркуляції у кров'яному руслі. Упродовж життєвого циклу еритроцитів відбувається втрата ними гемо-

глобіну, у тому числі необоротно модифікованого, способом везикуляції [111]. Очевидно, це дає змогу збільшити тривалість перебування еритроцитів у циркуляції.

Відомо, що у спленектомізованих осіб еритроцити втрачають 15 % гемоглобіну поступово упродовж періоду циркуляції еритроцита лінійним способом. У здорових суб'єктів додатково ще 5 % гемоглобіну втрачається упродовж другої половини життя еритроцитів [112].

У щурів везикули еритроцитарного походження швидко виводяться з кровообігу головним чином клітинами печінки Купфера і, меншою мірою, іншими макрофагами мононуклеарної системи фагоцитів. Втрата гемоглобіну еритроцитами людини аналогічна втраті гемоглобіну у щурів, тому, ймовірно, механізми везикуляції є схожими. Приблизно 20 % гемоглобіну, а також 20 % площі поверхні еритроцит людини втрачає упродовж свого життя. Експозиція фосфатидилсерину на зовнішній поверхні еритроцитів призводить до вилучення як везикул із поверхні батьківської клітини, так і цілих еритроцитів із кровотоку клітинами Купфера й іншими макрофагами мононуклеарної фагоцитарної системи [113].

Позаклітинні везикули класифікують за їхнім внутрішньоклітинним походженням. Під час дозрівання ретикулоцитів протеїни, які не будуть входити до складу мембрани зрілого еритроцита, секвеструються у внутрішніх везикулах, наявних у багатовезикулярних тільцях. Ці везикули називають екзосомами, оскільки виділення їх у позаклітинне середовище відбувається внаслідок злиття багатовезикулярних тілець з плазматичною мембраною клітини. Ще один підтип позаклітинних везикул відомий як мікровезикули, або ектосоми, які вивільняються назовні брунькуванням плазматичної мембрани [6, 30, 100].

До позаклітинних везикул еритроцитарного походження належать мікровезикули, екзовезикули, ектосоми, нановезикули та мікрочастинки [48, 70]. Їхню появу *in vivo* ініціюють підвищення внутрішньоклітинної концентрації катіонів кальцію, зменшення молекул АТФ у клітині та вплив оксидативних стресових умов [45].

Вважають, що утворення нановезикул відбувається під час ериптозу, кластеризації протеїну смуги 3 та, ймовірно, в умовах оксидативного стресу. Через зміну функціональної активності неспецифічних катіонних каналів відбувається підвищення концентрації Ca^{2+} у цитоплазмі еритроцитів, які зазнають ериптозу, а відтак – активація кальпаїну, скрамблази та флопази, а також пригнічення фліпази [20]. Порушення фосфоліпідної асиметрії, яке при цьому виникає, сприяє появі нановезикул [45].

У механізмі кластеризації протеїну смуги 3 окиснення гемоглобіну призводить до утворення геміхромів з подальшою агрегацією мультимерів протеїну смуги 3 та деградацією протеїнів мембранного цитоскелету [103].

Гіпотеза утворення нановезикул за умов оксидативного стресу ґрунтується на тому, що активні форми кисню індують зв'язування гемоглобіну з протеїном смуги 3, активацію кальцієвих каналів, фосфорилування протеїнів і агрегацію протеїнів смуги 3 [103]. Аргументом на користь цієї гіпотези є пригнічення утворення нановезикул за впливу антиоксидантів [98].

Якщо клітини-попередники еритроцитів у процесі ремодельовання під час їхнього дозрівання виділяють у позаклітинне середовище екзосоми, то зрілі еритроцити утворюють мікровезикули [26].

Під час енуклеації пізнього еритробласта і його перетворення на ретикулоцит увесь спектрин, який спочатку містився у значно більшому за розмірами попереднику, потрапляє в ретикулоцит [115]. Ретикулоцит під час перетворення на зрілий еритроцит теж втрачає частину біліпідної плазматичної мембрани, а тому щільність розташування спектрину

на мембрані зростає, і клітина набуває форми двоввігнутого диска [46, 52]. Отже, це добре регульований процес, під час якого у мембрані еритроцита залишається строго збалансована кількість протеїнів мембранного каркасу для підтримання біліпідного шару.

Постає запитання: чи відбувається реконструкція мембранного цитоскелету еритроцитів під час старіння *in vivo*, оскільки втрата біліпідного шару у складі везикул, мабуть, призведе до надлишку спектрину в клітині, хоча насправді такий дисбаланс для еритроцитів у циркуляції не спостерігають. Виявляється, що у процесі старіння еритроцитів людини зменшується не лише площа поверхні мембрани клітин, але і вміст спектрину й інших компонентів мембранного скелету. Причому в еритроцитах людини вміст спектрину був тим нижчим, чим вище співвідношення протеїнів 4.1a/4.1b. Отже, зменшення спектрину в еритроцитах є явищем, пов'язаним із віком клітин [23].

Чи можлива втрата спектрину завдяки явищам протеолізу у старіючому еритроциті? Вважають, що протеолітичне зменшення вмісту спектрину в еритроциті малоімовірно. Доведено, що еритроцити містять компоненти убіквітин-протеасомної системи деградації білків [87]. Зрілі еритроцити людини містять 20S протеасоми, проте кількість 26S протеасомних комплексів була мінімальною [83]. Очевидно, окрім вільних від спектрину везикул, утворених біліпідним шаром плазматичної мембрани, також вивільнюються везикули, у складі яких наявний спектрин, а механізми цих процесів різні.

На ймовірне вивільнення спектрину разом із везикулами вказує і той факт, що у процесі старіння еритроцита не відбувається збільшення мономерів чи димерів вільного спектрину або його фрагментів, утворених під час дисоціації мембранного цитоскелету [24].

На частку найстаріших і найбільш щільних еритроцитів у кров'яному руслі людини припадає приблизно 1,0 % клітин. Площа поверхні цих еритроцитів менша на 17 % порівняно з молодими клітинами, а їхній об'єм – на 25 %. Особливість полягає у тому, що зменшення площі поверхні й об'єму еритроцита упродовж старіння відбувається збалансовано, і в циркуляції еритроцити зберігають форму двоввігнутого диска та здатність до деформації [108].

З огляду на це, старими еритроцитами є клітини, які підтримувались у «здоровому» стані завдяки постійному видаленню пошкоджених ділянок мембрани та включень способом везикуляції у селезінці, а тому змогли пройти контроль на наступний раунд у циркуляції.

Остаточне вилучення еритроцита з кровотоку відбувається, коли настає перетин певного порога розміру клітини та жорсткості її плазматичної мембрани, внаслідок чого вже менший і з порушеною здатністю до деформації еритроцит сповільнює рух у венозних синусах печінки та селезінки, що сприяє його взаємодії з макрофагами. Вони розпізнають фосфатидилсерин у зовнішньому шарі плазматичної мембрани старих або пошкоджених еритроцитів як сигнал «з'їж мене» [72]. Поверхня еритроцитів містить і інші сигнали, сумарна взаємодія яких визначає інтенсивність фагоцитозу.

Сигнальні механізми ініціації еритрофагоцитозу

Розпізнавання макрофагами фосфатидилсерину на зовнішній поверхні еритроцитів є одним із етапів рецептор-залежного вилучення з кровотоку старих або ушкоджених клітин. Взаємодія між фосфатидилсерином і рецепторами макрофага буває безпосередньою та опосередкованою [90]. Безпосереднє розпізнавання фосфатидилсерину на зовнішній поверхні плазматичної мембрани здійснюють рецептори макрофага Stabilin-2, BA11, Tim-1, Tim-4, CD300 [8, 34]. Інтегрини $\alpha v \beta 3$ та $\alpha v \beta 5$, а також рецептор Mer тирозинкінази взаємодіють з фосфатидилсерином опосередковано за участю опсонинів MFG-E8, Gas 6 та протеїну S (рис. 2).

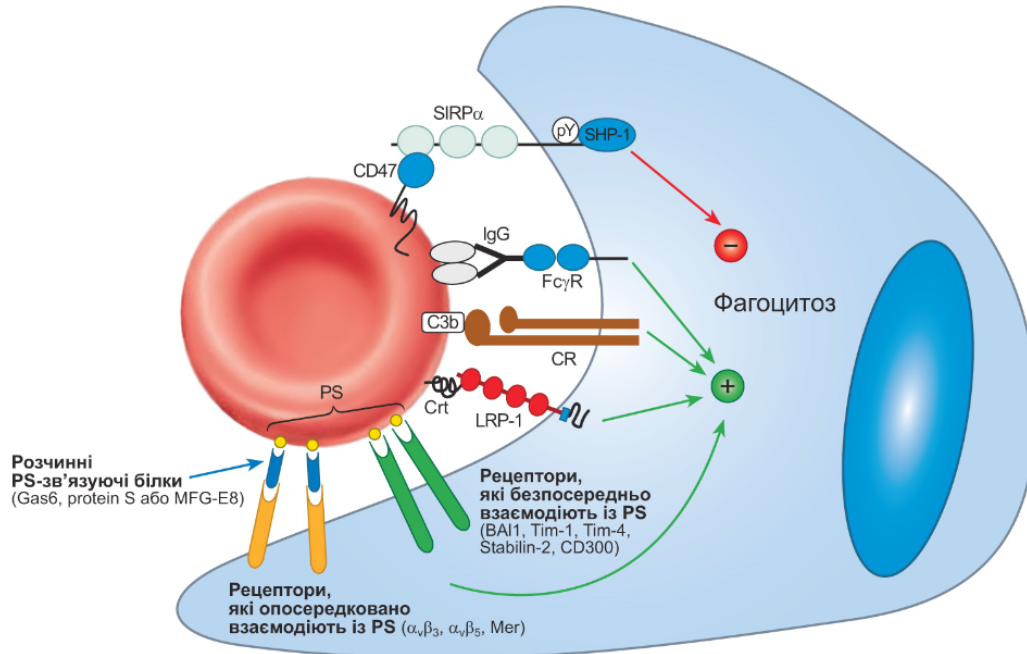


Рис. 2. Механізми еритрофагоцитозу. Фагоцитоз ініціює (+) взаємодія рецепторів макрофага з відповідними лігандами поверхні еритроцита: Fc γ -рецепторів з IgG, CR з фактором комплементу C3b, LRP-1 з калретікуліном, PS-рецепторів (TIM-1, TIM-4, Stabilin-2 тощо) безпосередньо з фосфатидилсерином і PS-рецепторів ($\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, Mer), які опосередковано взаємодіють із фосфатидилсерином, з розчинними PS-зв'язуючими білками (MFG-E8, Gas 6, Protein S). Пригнічує фагоцитоз (-), стимульований Fc γ R, CR та LRP-1, взаємодія рецептора макрофага SIRP α з CD47 еритроцита. Джерело: за даними Qadri S. M. and al., 2017 [90]

Наявність фосфатидилсерину в зовнішньому шарі плазматичної мембрани еритроцитів розпізнають не лише макрофаги селезінки та печінки. На поверхні гладеньком'язових клітин стінки артерій також наявні рецептори до фосфатидилсерину. На зразках сонної артерії людини *in vitro* показано здатність гладеньком'язових клітин фагоцитувати старі еритроцити, зовнішній шар плазматичної мембрани яких містить фосфатидилсерин [55].

Еритроцити, в яких індукували експозицію фосфатидилсерину в зовнішньому ліпідному шарі плазматичної мембрани та втрату здатності деформуватися, зазнавали фагоцитозу ендотеліальними клітинами *in vitro* як у статичних умовах, так і в умовах потоку під час перфузії [33].

У старіючих еритроцитах не лише з'являються сигнали для ініціації фагоцитозу, але й послаблюються сигнали, які запобігають поглинанню еритроцитів макрофагами та їхній елімінації з кровотоку.

Відомо, що еритроцити містять поверхневий білок CD47, який захищає їх від фагоцитозу. Він є лігандом для сигнального регуляторного протеїну SIRP α макрофагів. Сигнальний регуляторний протеїн (Signal regulatory protein, SIRP), також відомий як SHPS-1 або SIRPA, – це трансмембранний протеїн, який має три імуноглобулінових домени у позаклітинній ділянці та сайти фосфорилування тирозину з цитоплазматичного боку. Він зв'язується з SHP-1 і SHP-2 [38, 106].

Взаємодія SIRP α макрофагів селезінки з CD47 еритроцитів сприяє фосфорилуванню тирозину у складі протеїну SIRP α та його асоціації з фосфатазою SHP-1. Одночасно з активуванням SHP-1 фосфатази відбувається інактивування молекули *myosin-II*. Комплекс SIRP α -CD47 негативно регулює Fc γ -рецептор-залежний фагоцитоз завдяки дефосфорилуванню *myosin-IIA*. Унаслідок цього пригнічується скоротлива активність цитоскелету, що бере участь у втягуванні клітини в макрофаг [104]. У такий спосіб гальмується фагоцитоз еритроцитів, і вони продовжують циркулювати у кров'яному руслі. Утворення комплексу SIRP α -CD47 називають сигналом «не їж мене» [78].

В еритроцитах CD47 є частиною Rh-комплексу і взаємодіє з протеїном смуги 3 та протеїном смуги 4.2, які перебувають у складі одного макрокомплексу. Цікаво, що у Rh-null чи протеїн 4.2-дефіцитних пацієнтів, в яких була редукована експресія CD47 в еритроцитах, спостерігали легку форму гемолітичної анемії [81]. Можливо, гемолітична анемія у цих осіб частково була наслідком пригнічення інгібуючого впливу CD47-SIRP α на макрофаги селезінки.

Водночас конформаційна перебудова білка CD47, яку спостерігають у старих еритроцитах, може перемикає сигнал з «не їж мене» на «з'їж мене». Очевидно, конформаційні зміни молекули CD47 спричиняють продукти пероксидного окиснення ліпідів. Як наслідок, відбувається зв'язування тромбоспондину-1 (TSP-1) з CD47, що створює новий сайт зв'язування для SIRP α [11, 19]. Своєю чергою, цей альтернативний сайт зв'язування для SIRP α індукуює фагоцитоз.

Тромбоспондин є першим ідентифікованим ендogenousним лігандом для CD47 [39]. Старі еритроцити мають здатність зв'язувати TSP-1, а дія на старіючі еритроцити TSP-1-похідними частинками сприяє їхньому фагоцитозу макрофагами червоної пульпи селезінки людини. Аналогічно конформаційних змін зазнає CD47 еритроцитів, які тривалий час зберігалися, внаслідок чого відбулося зв'язування CD47 з TSP-1 [25].

Зниження експресії трансмембранного протеїну еритроцитів CD47 спостерігали також у осіб з ожирінням [110]. Зменшення експресії CD47 в еритроцитах миші було асоційоване зі зростанням кліренсу еритроцитів завдяки їхньому фагоцитуванню макрофагами [85]. Проте для еритроцитів людини є суперечливі дані щодо залежності між інтенсивністю фагоцитозу червоних кров'яних клітин і рівнем експресії на їхній поверхні CD47. Arndt P.A. та Garratty G. (2004) не виявили жодних доказів того, що еритроцити зі зменшеною кількістю CD47 на поверхні їхньої плазматичної мембрани (Rh_{null} еритроцити), більшою мірою зазнають фагоцитозу порівняно з еритроцитами із нормальною кількістю CD47 [10]. Разом з тим, R.K. Tsai зі співавторами (2010) продемонстрували, що активність гальмування фагоцитозу еритроцитів людини залежить від щільності CD47 на їхній поверхні [105].

З наведених фактів випливає, що комплекс CD47-SIRP α має подвійну роль у регулюванні фагоцитозу еритроцитів макрофагами, а сам механізм вилучення еритроцитів з кровотоку складний і не до кінця зрозумілий [29]. Очевидно, CD47 виконує роль молекулярного перемикача у регулюванні фагоцитозу [25].

Макрофаги також містять рецептор (LRP-1/ CD91), який розпізнає калретикулін на поверхні еритроцитів. Взаємодія LRP-1 з калретикуліном спричиняє фагоцитоз еритроцитів у тому разі, коли пригнічується утворення комплексу CD47-SIRP α [40, 84].

Протеїн смуги 3, трансмембранний протеїн, на частку якого припадає 25 % від загальної кількості мембранних протеїнів, є мішенню для природних антитіл у процесі елімінації старих і пошкоджених еритроцитів макрофагами. Протеїн складається з двох доменів: 1) мембранного домену з функцією аніонного обмінника, який після кластеризації

розпізнають природні антитіла IgG ізотипу та 2) цитоплазматичного домену, який відповідає за зв'язування цитоскелету з плазматичною мембраною.

Досі немає єдиної думки щодо механізму, який призводить до утворення епітопу на макромолекулі протеїну смуги 3 та до зв'язування природних антитіл. Вважають, що оксидативне пошкодження гемоглобіну в період перебування еритроцита у циркуляції призводить до утворення геміхромів, які зв'язуються з протеїном смуги 3 та спричиняють його кластеризацію [9, 86]. Природні антитіла виявляють підвищену спорідненість до кластерів протеїну смуги 3 [47].

Згідно з іншою гіпотезою, протеолітична деградація протеїну смуги 3 є важливою для формування епітопів для зв'язування з природними антитілами [51]. Проте природні антитіла не є істотними опсонінами через їхню низьку спорідненість і кількість у плазмі крові. Кластеризація протеїнів смуги 3 робить можливим двовалентне зв'язування природних антитіл, а відтак – стимулювання осадження C3b завдяки генеруванню комплексів C3b2-IgG, які діють як потужні попередники конвертази C3 альтернативного шляху комплементу. Такі комплекси є більш стійкими до інактивації факторами H та I. Приєднання C3b до еритроцитів (опсонізація) сприяє їхньому розпізнаванню макрофагами червоної пульпи селезінки, які містять на своїй поверхні рецептори до комплементу (CR1) [71].

Зв'язування антитіл не тільки з кластеризованим, але і з олігомеризованим протеїном смуги 3 збільшується, якщо у плазмі крові людини наявні індуквані антитіла до лактоферину. Антитіла до лактоферину не виявляють у здорових осіб, проте вони є у плазмі крові пацієнтів з аутоімунними захворюваннями та за наявності антинейтрофільних цитоплазматичних антитіл (ANCA) [71].

Зменшення вмісту мембранного протеїну смуги 3, β -субодиниці спектрину з одночасним збільшенням вмісту протеїнів смуги 4.5 та смуги 4.2, що призводять до зменшення деформабельності мембрани еритроцитів і пришвидшення процесів старіння, спостерігали за нокаутом гена *pttg* у мишей [2].

Макрофаги печінки та селезінки фагоцитують і метаболізують імунні комплекси, які переносять на своїй поверхні еритроцити. На поверхні еритроцитів людини та вищих приматів наявний рецептор комплементу 1 (CR1), який у кров'яному руслі зв'язує опсонізовані частинки (імунні комплекси), що несуть C3b / C4b [53]. У такий спосіб ці опсонізовані частинки транспортуються до селезінки та печінки, де їх фагоцитують макрофаги, а неушкоджений еритроцит продовжує циркулювати у кровотоці. Після зв'язування CR1 з частинками, опсонізованими C3b та C4b, активується вивільнення АТФ, збільшується рухливість ліпідної фракції мембрани еритроцита, що, у свою чергу, полегшує кластеризацію CR1 і тим самим підвищує стійкість зв'язування опсонізованих частинок з CR1 на поверхні еритроцита [80].

Неоцитоліз

У людини, яка проживає на рівні моря в умовах нормоксії, щосекунди два мільйони еритроцитів руйнуються та замінюються на нові еритроцити, які утворюються у червоному кістковому мозку внаслідок низки послідовних перетворень клітин попередників. З червоного кісткового мозку у кровотік надходять ретикулоцити, які містять органели, окрім ядра, та через 1–2 доби (у середньому 20 год) перетворюються на зрілі еритроцити. Нормальний стаціонарний еритропоез за умов нормоксії відбувається з майже постійною швидкістю утворення еритроцитів, яка становить $\sim 160 \times 10^6$ еритроцитів за хвилину [74].

За умов гіпоксії спостерігають стресовий еритропоез, або стрес-еритропоез. Збільшення кількості еритроцитів у периферичній крові є одним із механізмів адаптації організму до середовища з низьким парціальним тиском кисню, внаслідок чого покращується

забезпечення киснем усіх тканин. Випадки гострої тканинної гіпоксії, такі як втрата крові, гемоліз і підвищена продукція еритропоєтину, різко стимулюють еритропоез і появу молодих клітин у циркуляції.

Стресовий еритропоез в основному досліджували на моделі миші, яку одержали способом індукування фенілгідразинном ліпідної пероксидації та гемолітичної анемії. У людини ознаки стресового еритропоезу виявляють під час гострої анемії. За цих умов він схожий на еритропоез плода [88], а відтак – збільшується частка клітин-попередників крові, які містять HbF. Гіпоксія також індукує появу HbF-вмісних еритроцитів у культурі клітин-попередників від пацієнтів зі серпоподібно-клітинною анемією і таласемією. Помірне збільшення рівня мРНК та протеїну γ -ланцюга, а також кількості еритроцитів з HbF спостерігали у людей після 17-денного перебування в умовах гіпоксії на висоті понад 3100 м [93].

Постає необхідність коригування кількості еритроцитів, наприклад, після повернення до умов нормоксії. Припускають, що зменшення еритроцитарної маси відбувається завдяки нецитолізу – селективному руйнуванню наймолодшої популяції еритроцитів крові, нецитів, одразу після їхнього надходження з кісткового мозку [7].

Неоцити – це молоді (≤ 30 днів) та менш щільні еритроцити, які здатні довше циркулювати у кров'яному руслі. Термін «неоцит» виник наприкінці 70-х років ХХ ст. у трансфузіології. У 1978 р. була одержана фракція молодих еритроцитів кроля шляхом центрифугування по плавучій густині у градієнті арабіногалактану. Під час переливання їх тваринам з'ясувалося, що ці еритроцити живуть на 50 % довше, ніж нефракціоновані клітини.

Вдруге термін неоцит почали застосовувати в іншому контексті для трактування «космічної анемії» [7], а також процесів деакліматизації людей після перебування у високогір'ї [91].

За умов гіпоксії клітини-попередники еритроцитів дозрівають у червоному кістковому мозку під впливом еритропоєтину у високих концентраціях. Такі еритроцити, очевидно, мають певні біохімічні особливості для їхнього функціонування саме в умовах гіпоксії. Оскільки вони більш чутливі до продуктів ліпідної пероксидації, то після повернення людини до умов нормоксії швидко елімінуються з кров'яного русла.

Кроком для доведення або спростування гіпотези нецитолізу стануть дослідження співвідношення протеїнів 4.1a / 4.1b як абсолютного маркера віку еритроцитів незалежно від їхньої щільності чи метаболічної активності [92]. Ці дані можна буде використати для оцінки селективного видалення молодих клітин, що дає прямі докази існування нецитолізу. Друге – необхідно виявити причини селективного кліренсу клітин, які утворені в умовах високогір'я. Молоді клітини, мічені для передчасного видалення з кров'яного русла, несуть на своїй поверхні сигнали «з'їж мене» або втратили сигнали «не їж мене», а тому розпізнаються макрофагами з метою запобігання внутрішньосудинному гемолізу.

Розуміння фізіологічних основ руйнування еритроцитів важливе як з теоретичної, так і з практичної точки зору для клінічної медицини, розробки нових терапевтичних підходів, наприклад, для лікування малярії, корекції адаптивних можливостей людини до екстремальних станів (умови гіпоксії, невагомості тощо). Хоча на сьогодні наявна велика кількість фактичного матеріалу, однак об'єднати його у струнку теорію ще не вдається через наявні прогалини у цій сфері, яка потребує подальшого вивчення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Атауллаханов Ф. И., Корунова Н. О., Спиридонова И. С. и др. Как регулируется объем эритроцита, или Что могут и чего не могут математические модели в биологии // Биологические мембраны. 2009. Т. 26. № 3. С. 163–79.
2. Канюка О. П., Філяк Є. З., Кулачковський О. Р. та ін. Кількісні зміни основних компонентів еритроцитарної мембрани, що визначають архітектоніку клітин за нокауту гена *pttg* // Ukrainian Biochemical Journal. 2014. Vol. 86. N 2. С. 41–49.
3. Новицкий В. В., Рязанцева Н. В., Степовая Е. А. Физиология и патофизиология эритроцита. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 2004. 200 с.
4. Руководство по гематологии / под ред. А.И. Воробьева. Т. 3. М.: Ньюдиамед, 2005. 416 с.
5. Уразова О. И., Новицкий В. В. Лабораторная диагностика гематологических синдромов и болезней. Томск: Печатная мануфактура, 2008. 97 с.
6. Alaarg A., Schiffelers R. M., van Solinge R. W., van Wijk R. Red blood cell vesiculation in hereditary hemolytic anemia // Front. Physiol. 2013. Vol. 4. P. 365.
7. Alfrey C. P., Rice L., Udden M. M., Driscoll T. B. Neocytolysis: physiological down-regulator of red-cell mass // Lancet. 1997. Vol. 349. N 9062. P. 1389–1390.
8. Arandjelovic S., Ravichandran K. S. Phagocytosis of apoptotic cells in homeostasis // Nat. Immunol. 2015. Vol. 16. N 9. P. 907–917.
9. Arashiki N., Kimata N., Manno S. et al. Membrane peroxidation and methemoglobin formation are both necessary for band 3 clustering: mechanistic insights into human erythrocyte senescence // Biochemistry. 2013. Vol. 52. N 34. P. 5760–5769.
10. Arndt P. A., Garratty G. Rh(null) red blood cells with reduced CD47 do not show increased interactions with peripheral blood monocytes // Br. J. Haematol. 2004. Vol. 125. N 3. P. 412–414.
11. Barclay A. N., van den Berg T. K. The interaction between Signal Regulatory Protein Alpha (SIRPAlpha) and CD47: structure, function, and therapeutic target // Annu. Rev. Immunol. 2014. Vol. 32. P. 25–50.
12. Bevers E., Comfurius P., Dekkers D., Zwaal R. Lipid translocation across the plasma membrane of mammalian cells // Biochim. Biophys. Acta. 1999. Vol. 1439. N 3. P. 317–330.
13. Bogdanova A., Makhro A., Wang J. et al. Calcium in red blood cells—a perilous balance // Int. J. Mol. Sci. 2013. Vol. 14. P. 9848–9872.
14. Bookchin R. M., Lew V. L. Progressive inhibition of the Ca pump and Ca:Ca exchange in sickle red cells // Nature. 1980. Vol. 284. P. 561–563.
15. Bosman G. J. Survival of red blood cells after transfusion: processes and consequences // Front. Physiol. 2013. Vol. 4. P. 376.
16. Bosman G. J., Willekens F. L., Werre J. M. Erythrocyte aging: a more than superficial resemblance to apoptosis? // Cell Physiol. Biochem. 2005. Vol. 16. P. 1–8.
17. Brovelli A., Minetti G. Red cell ageing. In: Bernhardt I, Ellory JC (eds). Red Cell Membrane Transport in Health and Disease. Springer: Heidelberg, Germany, 2003. P. 673–690.
18. Bruce L. J., Ghosh S., King M. J. et al. Tanner Absence of CD47 in protein 4.2-deficient hereditary spherocytosis in man: an interaction between the Rh complex and the band 3 complex // Blood. 2002. Vol. 100. N 5. P. 1878–1885.
19. Burger P., Hilarius-Stokman P., de Korte D. et al. CD47 functions as a molecular switch for erythrocyte phagocytosis // Blood. 2012. Vol. 119. P. 5512–5521.
20. Burnier L., Fontana P., Kwak B. R., Angelillo-Scherrer F. Cell-derived microparticles in haemostasis and vascular medicine // Thromb. Haemost. 2009. Vol. 101. N 3. P. 439–451.

21. *Catan A., Turpina C., Diotela N.* et al. Aging and glycation promote erythrocyte phagocytosis by human endothelial cells: Potential impact in atherothrombosis under diabetic conditions // *Atherosclerosis*. 2019. Vol. 291. P. 87–98.
22. *Chu H., Puchulu-Campanella E., Galan J. A.* et al. Identification of cytoskeletal elements enclosing the ATP pools that fuel human red blood cell membrane cation pumps // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012. Vol. 109. P. 12794–12799.
23. *Ciana A., Achilli C., Gaur A., Minetti G.* Membrane remodelling and vesicle formation during ageing of human red blood cells // *Cell Physiol. Biochem*. 2017. Vol. 42. N 3. P. 1127–1138.
24. *Ciana A., Achilli C., Minetti G.* Spectrin and other membrane-skeletal components in human red blood cells of different age // *Cell Physiol. Biochem*. 2017. Vol. 42. N 3. P. 1139–1152.
25. *de Back D. Z., Kostova E. B., van Kraaij M.* et al. Of macrophages and red blood cells; a complex love story // *Front. Physiol*. 2014. Vol. 5. P. 9.
26. *de Vooght K. M., Lau C., de Laat P. P.* et al. Extracellular vesicles in the circulation: are erythrocyte microvesicles a confounder in the plasma haemoglobin assay? // *Biochem. Soc. Trans.* 2013. Vol. 41. N 1. P. 288–292.
27. *Derganc J., Bozic B., Svetina S., Zeks B.* Equilibrium shapes of erythrocytes in rouleau formation // *Biophys. J*. 2003. Vol. 84. P. 1486–1492.
28. *Dyrda A., Cytlak U., Ciuraszkiewicz A.* et al. Local membrane deformations activate Ca²⁺-dependent K⁺ and anionic currents in intact human red blood cells // *PLoS ONE*. 2010. Vol. 5. N 2. P. e9447.
29. *Ensinck M. A., Brajovich M. E. L., Borrás S. G.* et al. Erythrocyte senescent markers by flow cytometry // *Open Journal of Blood Diseases*. 2019. Vol. 09. N 03. P. 47–59.
30. *Fader C. M., Colombo M. I.* Multivesicular bodies and autophagy in erythrocyte maturation // *Autophagy*. 2006. Vol. 2. N 2. P. 122–125.
31. *Fedosov D. A., Dao M., Karniadakis G. E., Suresh S.* Computational biorheology of human blood flow in health and disease // *Ann. Biomed. Eng.* 2014. Vol. 42. P. 368–387.
32. *Fedosov D. A., Noguchi H., Gompper G.* Multiscale modeling of blood flow: from single cells to blood rheology // *Biomech. Model. Mechanobiol*. 2014. Vol. 13. P. 239–258.
33. *Fens M. H., van Wijk R., Andringa G.* et al. A role for activated endothelial cells in red blood cell clearance: implications for vasopathology // *Haematologica*. 2012. Vol. 97. P. 500–508.
34. *Flannagan R. S., Jaumouille V., Grinstein S.* The cell biology of phagocytosis // *Annu. Rev. Pathol.* 2012. Vol. 7. P. 61–98.
35. *Foller M., Kasinathan R. S., Koka S.* et al. TRPC6 contributes to the Ca(2+) leak of human erythrocytes // *Cell Physiol. Biochem*. 2008. Vol. 21. N 1–3. P. 183–192.
36. *Franco R. S.* The measurement and importance of red cell survival // *Am. J. Hematol*. 2009. Vol. 84. P. 109–114. doi: 10.1002/ajh.21298
37. *Franco R. S., Puchulu-Campanella M. E., Barber L. A.* et al. Changes in the properties of normal human red blood cells during in vivo aging // *Am. J. Hematol*. 2013. Vol. P. 44–51.
38. *Fujioka Y., Matozaki T., Noguchi T.* et al. A novel membrane glycoprotein, SHPS-1, that binds the SH2- domain-containing protein tyrosine phosphatase SHP-2 in response to mitogens and cell adhesion // *Mol. Cell. Biol*. 1996. Vol. 16. N 12. P. 6887–6899.
39. *Gao A. G., Frazier W. A.* Identification of a receptor candidate for the carboxyl-terminal cell binding domain of thrombospondins // *J. Biol. Chem*. 1994. Vol. 269. N 47. P. 29650–29657.
40. *Gardai S. J., McPhillips K. A., Frasch S. C.* et al. Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte // *Cell*. 2005. Vol. 123. P. 321–334.
41. *Ginzel D., Silberberg S. D., Shoshan-Barmatz V.* Modulation of the voltage-dependent anion

- channel (VDAC) by glutamate // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2000. Vol. 32. N 6. P. 571–583.
42. *Ghashghaeinia M., Chuitmans J. C. A., Akel A.* et al. The impact of erythrocyte age on eryptosis // *Br. J. Haematol.* 2012. Vol. 157. N 5. P. 606–614.
43. *Gompper G., Fedosov D. A.* Modeling microcirculatory blood flow: current state and future perspectives // *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* 2016. Vol. 8. 157–168.
44. *Graham T.* Flippases and vesicle-mediated protein transport // *Trends Cell Biol.* 2004. Vol. 14. N 12. P. 670–677.
45. *Harisa G. I., Badran M. M., Alanazi F. K.* Erythrocyte nanovesicles: Biogenesis, biological roles and therapeutic approach: Erythrocyte nanovesicles // *Saudi Pharm J.* 2017. Vol. 25. N 1. P. 8–17.
46. *Holroyde C. P., Gardner F. H.* Acquisition of autophagic vacuoles by human erythrocytes. Physiological role of the spleen // *Blood.* 1970. Vol. 36. P. 566–575.
47. *Hornig R., Lutz H. U.* Band 3 protein clustering on human erythrocytes promotes binding of naturally occurring anti-band 3 and anti-spectrin antibodies // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. N 8. P. 1025–1044.
48. *Jank H., Salzer U.* Vesicles generated during storage of red blood cells enhance the generation of radical oxygen species in activated neutrophils // *Sci. World J.* 2011. Vol. 11. P. 173–185.
49. *Kaestner L.* Cation channels in erythrocytes – historical and future perspective // *Open Biol. J.* 2011. Vol. 4. P. 27–34.
50. *Kaestner L., Minetti G.* The potential of erythrocytes as cellular aging models // *Cell Death & Differentiation.* 2017. Vol. 24. P. 1475–1477.
51. *Kay M. M.* Band 3 and its alterations in health and disease // *Cell. Mol. Biol.* 2004. Vol. 50. N 2. P. 117–138.
52. *Kent G., Minick O. T., Volini F. I., Orfei E.* Autophagic vacuoles in human red cells // *Am. J. Pathol.* 1966. Vol. 48. P. 831–857.
53. *Khera R., Das N.* Complement Receptor 1: Disease associations and therapeutic implications // *Mol. Immunol.* 2009. Vol. 46. N 5. P. 761–772.
54. *Knowles D., Tilley L., Mohandas N., Chasis J.* Erythrocyte membrane vesiculation: model for the molecular mechanism of protein sorting // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. Vol. 94. N 24. P. 12969–12974.
55. *Kolb S., Vranckx R., Huisse M.-G.* et al. The phosphatidylserine receptor mediates phagocytosis by vascular smooth muscle cells // *J. Pathol.* 2007. Vol. 212. N 3. P. 249–259.
56. *Kristiansen M., Graversen J. H., Jacobsen C.* et al. Identification of the haemoglobin scavenger receptor // *Nature.* 2001. Vol. 409. N 6817. P. 198–201.
57. *Kuchel P. W., Shishmarev D.* Accelerating metabolism and transmembrane cation flux by distorting red blood cells // *Sci. Adv.* 2017. Vol. 3. N 10. P. eaao1016.
58. *Lang F., Gulbins E., Lang P. A.* et al. Ceramide in suicidal death of erythrocytes // *Cell. Physiol. Biochem.* 2010. Vol. 26. N 1. P. 21–28.
59. *Lang F., Gulbins E., Lerche H.* et al. Eryptosis, a window to systemic disease // *Cell Physiol. Biochem.* 2008. Vol. 22. P. 373–80.
60. *Lang F., Qadri S. M.* Mechanisms and significance of eryptosis, the suicidal death of erythrocytes // *Blood Purification.* 2012. Vol. 33. N 1–3. P. 125–130.
61. *Lang K. S., Duranton C., Poehlmann H.* et al. Cation channels trigger apoptotic death of erythrocytes // *Cell Death Differ.* 2003. Vol. 10. P. 249–256.
62. *Lang K. S., Lang P. A., Bauer C.* et al. Mechanisms of suicidal erythrocyte death // *Cell Physiol. Biochem.* 2005. Vol. 15. N 5. P. 195–202.

63. Lang K. S., Myssina S., Brand V. et al. Involvement of ceramide in hyperosmotic shock-induced death of erythrocytes // *Cell Death Differ.* 2004. Vol. 11. N 2. P. 231–243.
64. Lang P. A., Kempe D. S., Tanneur V. et al. Stimulation of erythrocyte ceramide formation by platelet-activating factor // *J. Cell Sci.* 2005. Vol. 118. P. 1233–1243.
65. Lanotte L., Mauer J., Mendez S. et al. Red cells' dynamic morphologies govern blood shear thinning under microcirculatory flow conditions // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2016. Vol. 113. P. 13289–13294.
66. Levy A. P., Asleh R., Blum S. et al. Haptoglobin: basic and clinical aspects. *Antioxid Redox Signal.* 2010. Vol. 12. N 2. P. 293–304.
67. Lew V. L., Daw N., Etzion Z. et al. Effects of age-dependent membrane transport changes on the homeostasis of senescent human red blood cells // *Blood.* 2007. Vol. 110. P. 1334–1342.
68. Lew V. L., Raftos J. E., Sorette M. P. et al. Generation of normal human red cell volume, hemoglobin content and membrane area distributions, by “birth” or regulation? // *Blood.* 1995. Vol. 86. P. 334–341.
69. Lew V. L., Tiffert T. On the mechanism of human red blood cell longevity: Roles of Calcium, the Sodium Pump, PIEZO1, and Gardos Channels // *Front Physiol.* 2017. Vol. 12. N 8. P. 977.
70. Lutz H. U., Bogdanova A. Mechanisms tagging senescent red blood cells for clearance in healthy humans // *Front. Physiol.* 2013. Vol. 4. P. 387.
71. Lutz H. U. Naturally occurring anti-band 3 antibodies in clearance of senescent and oxidatively stressed human red blood cells // *Transfus Med Hemother.* 2012. Vol. 39. N 5. P. 321–327.
72. Lutz H. U., Bogdanova A. Mechanisms tagging senescent red blood cells for clearance in healthy humans // *Front Physiol.* 2013. Vol. 4. P. 387.
73. Maher A. D., Kuchel P. W. The Gardos channel: a review of the Ca²⁺-activated K⁺ channel in human erythrocytes // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2003. Vol. 35. N 8. P. 1182–1197.
74. Mairböurl H. Neocytolysis: how to get rid of the extra erythrocytes formed by stress erythropoiesis upon descent from high altitude // *Front Physiol.* 2018. Vol. 9. P. 345.
75. Makhro A., Wang J., Vogel J. et al. Functional NMDA receptors in rat erythrocytes // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2010. Vol. 298. N 6. P. C1315–C1325.
76. Makhro A., Hanggi P., Goede J. et al. N-Methyl d-Aspartate (NMDA) receptors in erythroid precursor cells and in circulating human red blood cells contributes to the regulation of intracellular calcium levels // *Am. J. Physiol.* 2013. Vol. 305. N 11. P. C1123–C1138.
77. Mandal D., Mazumder A., Das P. et al. Fas-, caspase 8-, and caspase 3-dependent signaling regulates the activity of the aminophospholipid translocase and phosphatidylserine externalization in human erythrocytes // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280. P. 39460–39467.
78. Matozaki T., Murata Y., Okazawa H., Ohnishi H. Functions and molecular mechanisms of the CD47-SIRPalpha signalling pathway // *Trends Cell Biol.* 2009. Vol. 19. N 2. P. 72–80.
79. Mehdi M. M., Singh P., Rizvi S. I. Erythrocyte sialic acid content during aging in humans: correlation with markers of oxidative stress // *Dis Markers.* 2012. Vol. 32. N 3. P. 179–186.
80. Melhorn M. I., Brodsky A. S., Estanislau J. et al. CR1-mediated ATP Release by Human Red Blood Cells Promotes CR1 Clustering and Modulates the Immune Transfer Process // *J. Biol. Chem.* 2013. Vol. 288. N 43. P. 31139–31153.
81. Miller Y. E., Daniels G. L., Jones C., Palmer D. K. Identification of a cell-surface antigen produced by a gene on human chromosome 3 (cen-q22) and not expressed by Rhnull cells // *Am. J. Hum. Genet.* 1987. Vol. 41. N 6. P. 1061–1070.
82. Morel O., Jesel L., Freyssinet J., Toti F. Cellular mechanisms underlying the formation of circulating microparticles // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011. Vol. 31. N 1. P. 15–26.

83. *Neelam S., Kakhniashvili D. G., Wilkens S.* et al. Functional 20S proteasomes in mature human red blood cells // *Exp. Biol. Med (Maywood)*. 2011. Vol. 236. N 5. P. 580–591.
84. *Nilsson A., Vesterlund L., Oldenborg P. A.* Macrophage expression of LRP1, a receptor for apoptotic cells and unopsonized erythrocytes, can be regulated by glucocorticoids // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012. Vol. 417. N 4. P. 1304–1309.
85. *Olsson M., Nilsson A., Oldenborg P. A.* Dose-dependent inhibitory effect of CD47 in macrophage uptake of IgG-opsonized murine erythrocytes // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007. Vol. 352. N 1. P. 193–197.
86. *Pantaleo A., Giribaldi G., Mannu F.* et al. Naturally occurring anti-band 3 antibodies and red blood cell removal under physiological and pathological conditions // *Autoimmun. Rev.* 2008. Vol. 7. N 6. P. 457–462.
87. *Pasini E. M., Kirkegaard M., Mortensen P.* et al. In-depth analysis of the membrane and cytosolic proteome of red blood cells // *Blood*. 2006. Vol. 108. N 3. P. 791–801.
88. *Paulson R. F., Shi L., Wu D. C.* Stress erythropoiesis: new signals and new stress progenitor cells // *Curr. Opin. Hematol.* 2011 May. Vol. 18(3). P. 139–145.
89. *Pulford K., Micklem R., McCarthy S.* et al. A monocyte/macrophage antigen recognized by the four antibodies GHI/61, BerMAC3, Ki-M8 and SM4 // *Immunology*. 1992. Vol. 75. N 4. P. 588–595.
90. *Qadri S. M., Bissinger R., Solh Z., Oldenborg, P.-A.* Eryptosis in health and disease: A paradigm shift towards understanding the (patho)physiological implications of programmed cell death of erythrocytes // *Blood Reviews*. 2017. Vol. 31. N 6. P. 349–361.
91. *Rice L., Ruiz W., Driscoll T.* et al. Neocytolysis on descent from altitude: a newly recognized mechanism for the control of red cell mass // *Ann. Intern. Med.* 2001. Vol. 134. N 8. P. 652–656. 10.7326/0003-4819-134-8-200104170-00010
92. *Risso A., Ciana A., Achilli C.* et al. Neocytolysis: none, one or many? A reappraisal and future perspectives // *Front. Physiol.* 2014. Vol. 5. P. 54.
93. *Risso A., Fabbro D., Damante G., Antonutto G.* Expression of fetal hemoglobin in adult humans exposed to high altitude hypoxia // *Blood Cells Mol. Dis.* 2012. Vol. 48. N 3. P. 147–153.
94. *Schaer D. J., Schaer C. A., Buehler P. W.* et al. CD163 is the macrophage scavenger receptor for native and chemically modified hemoglobins in the absence of haptoglobin // *Blood*. 2006. Vol. 107. N 1. P. 373–380.
95. *Schaer C. A., Vallelian F., Imhof A.* et al. CD163- expressing monocytes constitute an endotoxin-sensitive Hb clearance compartment within the vascular system // *J. Leukoc Biol.* 2007. Vol. 82. P. 106–110.
96. *Schaer D. J., Vinchi F., Ingolia G.* et al. Buehler Haptoglobin, hemopexin, and related defense pathways—basic science, clinical perspectives, and drug development // *Front. Physiol.* 2014. Vol. 5. P. 415.
97. *Stijlemans B., Cnops J., Naniima P.* et al. Development of a pHrodo-based assay for the assessment of in vitro and in vivo erythrophagocytosis during experimental trypanosomiasis // *PLoS Negl Trop Dis.* 2015. Vol. 9 (3). P. e0003561.
98. *Stowell S. R., Smith N. H., Zimring J. C.* et al. Addition of ascorbic acid solution to stored murine red blood cells increases posttransfusion recovery and decreases microparticles and alloimmunization // *Transfusion*. 2013. Vol. 53. N 10. P. 2248–2257.
99. *Subramanian K., Ruijuan Du, Tan N. S.* et al. CD163 and IgG codefend against cytotoxic hemoglobin via autocrine and paracrine mechanisms // *J. Immunol.* 2013. Vol. 190. N 10. P. 5267–5278.

100. *Thery C., Ostrowski M., Segura E.* Membrane vesicles as conveyors of immune responses // *Nat. Rev. Immunol.* 2009. Vol. 9. N 8. P. 581–593.
101. *Theurl I., Hilgendorf I., Nairz M.* et al. On-demand erythrocyte disposal and iron recycling requires transient macrophages in the liver // *Nat. Med.* 2016. Vol. 22. P. 945–951.
102. *Tiffert T., Bookchin R. M., Lew V. L.* Calcium homeostasis in normal and abnormal human red cells. In *Red Cell Membrane Transport in Health and Disease*; Bernhardt, I., Ellory, C., Eds.; Springer Verlag: Heidelberg, Germany. 2003. P. 373–405.
103. *Tissot J.-D., Canellini G., Rubin O.* et al. Blood microvesicles: from proteomics to physiology // *Translational Proteomic.* 2013. Vol. 1. N 1. P. 38–52.
104. *Tsai R. K., Discher D. E.* Inhibition of “self” engulfment through deactivation of myosin-II at the phagocytic synapse between human cells // *J. Cell Biol.* 2008. Vol. 180. N 5. P. 989–1003.
105. *Tsai R. K., Rodriguez P. L., Discher D. E.* Self inhibition of phagocytosis: the affinity of ‘Marker of Self’ CD47 for SIRP α dictates potency of inhibition but only at low expression levels // *Blood Cells Mol. Dis.* 2010. Vol. 45. N 1. P. 67–74.
106. *van den Berg T. K., van Beek E. M., Bühring H. J.* et al. A nomenclature for signal regulatory protein family members // *J. Immunol.* 2005. Vol. 175. N 12. P. 7788–7789
107. *Wagner-Britz L., Wang J., Kaestner L., Bernhardt I.* Protein kinase Calpha and P-type Ca channel CaV2.1 in red blood cell calcium signalling // *Cell Physiol. Biochem.* 2013. Vol. 31. N 6. P. 883–891.
108. *Waugh R. E., Narla M., Jackson C. W.* et al. Rheologic properties of senescent erythrocytes: loss of surface area and volume with red blood cell age // *Blood.* 1992. Vol. 79. N 5. P. 1351–1358.
109. *Wesseling M. C., Wagner-Britz L., Boukhdoud F.* et al. Measurements of intracellular Ca²⁺ content and phosphatidylserine exposure in human red blood cells: methodological issues // *Cell Physiol Biochem.* 2016. Vol. 38. N 6. P. 2414–2425.
110. *Wiewiora M., Piecuch J., Sedek L.* et al. The effects of obesity on CD47 expression in erythrocytes // *Cytometry B Clin Cytom.* 2017. Vol. 92. N 6. P. 485–491.
111. *Willekens F. L., Were J. M., Groenen-Döpp Y. A.* et al. Erythrocyte vesiculation: a self-protective mechanism? // *Br. J. Haematol.* 2008. Vol. 141. N 4. P. 549–556.
112. *Willekens F. L., Roerdinkholder-Stoelwinder B., Groenen-Döpp Y. A.* et al. Hemoglobin loss from erythrocytes in vivo results from spleen-facilitated vesiculation // *Blood.* 2003. Vol. 101. N 2. P. 747–&51.
113. *Willekens F. L., Werre J. M., Kruijt J. K.* et al. Liver Kupffer cells rapidly remove red blood cell-derived vesicles from the circulation by scavenger receptors // *Blood.* 2005. Vol. 105. N 5. P. 2141–2145.
114. *Zwadlo G., Voegeli R., Schulze Osthoff K., Sorg C.* A monoclonal antibody to a novel differentiation antigen on human macrophages associated with the down-regulatory phase of the inflammatory process // *Exp. Cell Biol.* 1987. Vol. 55. N 6. P. 295–304.
115. *Zweig S. E., Tokuyasu K. T., Singer S. J.* Member-associated changes during erythropoiesis. On the mechanism of maturation of reticulocytes to erythrocytes // *J. Supramol. Struct. Cell Biochem.* 1981. Vol. 17. P. 163–181.

Стаття надійшла до редакції 14.02.20

доопрацьована 18.05.20

прийнята до друку 19.05.20

CELLULAR MECHANISMS OF ERYTHRODIERESIS

T. Korol

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: tetiana.korol10@gmail.com*

Normally erythrodiereis is in a dynamic equilibrium with the process of erythropoiesis, and is therefore one of the factors to providing a relatively constant number of red blood cells in the bloodstream. The physiologically old, damaged and non-viable erythrocytes, as well as the erythrocytes which are produced during stress erythropoiesis, are destroyed. Erythrocyte clearance is a selective process. First of all, the cells that have lost their ability to deform are removed from the bloodstream. The deformability of red blood cells depends on the shape of the cells, the viscosity of the cytoplasm and the mechanical properties of the membrane. Old and altered erythrocytes are quite rigid, and are therefore delayed in the narrow capillaries and venous sinuses of the liver and spleen. In addition, macrophages of the liver and spleen phagocytize erythrocytes, which expose “eat me” signaling molecules on their surface. Exposure of phosphatidylserine on the outer cell surface of erythrocytes and vesicles results in their elimination from the bloodstream by Kupffer cells and other mononuclear phagocytes. During the initiation of erythrophagocytosis, the phosphatidylserine of the outer lipid layer of the erythrocyte plasma membrane directly interacts with the receptors Stabilin-2, TIM-1, TIM-4 or CD300 of macrophages. The macrophage’s integrins $\alpha v \beta 3$ and $\alpha v \beta 5$, as well as the Mer receptor tyrosine kinase indirectly interact with the cell surface-exposed phosphatidylserine through the soluble proteins MFG-E8, Gas 6 and protein S. Clustering of the erythrocyte membrane protein band 3 causes the binding of natural antibodies, and opsonization of erythrocytes with C3b enhances this process and facilitates the recognition of such cells by red pulp macrophages in the spleen. In senescent erythrocytes, the formation of the CD47-SIRP α complex («do not eat me» signal), is suppressed, and this is an additional stimulus for erythrocytes removing by splenic and liver macrophages.

The purpose of the review is to describe the mechanisms of erythrophagocytosis and the molecular determinants of erythrocyte senescence and death, including eryptosis and neocytolysis, and to illustrate the substantiated facts and contradictions that exist at the present time of the study of this scientific problem.

Keywords: erythrocyte, erythrodiereis, phagocytosis, eryptosis, phosphatidylserin, intracellular Ca²⁺ concentration