

Rol del glicocáliz en la Sepsis: Revisión de La literatura y enfoque traslacional.

Role of glycocalyx in the Sepsis:

Review of the literature and translational approach.

Carlos Gustavo Velarde Montero^{*}; Jorge Luis Vélez Páez^{1,†}; Mario Patricio Montalvo Villagómez^{1,++}; Fernando Esteban Jara González^{1,‡}; Santiago Xavier Aguayo Moscoso^{1,§}; Pablo Andrés Vélez Páez[§]
¹Hospital Pablo Arturo Suárez.

{carlostavo87@gmail.com; jorgeluisvelez13@hotmail.com; marpatmontvilla@gmail.com
fernandojarag@gmail.com; drsaguayo@gmail.com; pablomh2586@hotmail.com}

Fecha de recepción: 13 de junio de 2019 — **Fecha de aceptación:** 6 de julio de 2019

Resumen: El endotelio vascular está cubierto por glicocáliz en su región apical; una estructura compleja de macromoléculas formada por proteoglicanos y glicosaminoglicanos. Alteraciones en la fisiología de esta estructura en la sepsis podrían explicar la permeabilidad endotelial, vasoplejía, el estado procoagulante y la inflamación persistente; que clínicamente se ven asociados a disfunción de los órganos y consecuentemente alta mortalidad. Por lo que productos de la degradación del glicocáliz podrían usarse como biomarcadores para diagnóstico y pronóstico. Además de convertirse en objetivos farmacológicos o guías de reanimación temprana, por lo que el conocimiento de los mecanismos moleculares involucrados es de vital importancia en la práctica clínica.

Palabras clave — Glicocáliz, sepsis, endotelio. (MESH-NIH).

Abstract: The vascular endothelium is covered by glycocalyx in its apical region; a complex structure of macromolecules formed by proteoglycans and glycosaminoglycans. Alterations in the physiology of this structure in sepsis could explain endothelial patency, vasoplegia, the procoagulant state and persistent inflammation; that are clinically associated with organ dysfunction and consequently high mortality. Thus, products of glycocalyx degradation could be used as biomarkers for diagnosis and prognosis. In addition to becoming pharmacological targets or early resuscitation guides, so the knowledge of the molecular mechanisms involved are of vital importance in clinical practice.

Index Terms — Glycocalyx, sepsis, endothelium. (MESH-NIH).

INTRODUCCIÓN

“La disfunción orgánica que amenaza la vida causada por una respuesta desregulada del huésped a la infección”, Sepsis representa un trastorno grave con una mortalidad devastadora de aproximadamente 40% en choque séptico [1]. En el último milenio su definición ha cambiado varias veces por la dificultad compleja de la comprensión más próxima y real de su fisiopatología. La definición actual se centra en la disfunción orgánica [1]. Originada en la respuesta desregulada del huésped a la infección que se inicia por el reconocimiento del patógeno

mediante los (PAMPs), o también por ligandos endógenos (DAMPs) [2]. Que a nivel endotelial causan degradación del glicocáliz y liberación de sus constituyentes; generando (DAMPs) altamente potentes con consecuencias devastadoras en cascadas pro inflamatorias, que afectan prácticamente a todos los vasos sanguíneos, con una injuria sistémica en la microcirculación generando pérdida del control adecuado en el tono vascular, en la hemostasia, y como barrera capilar evento clave en la progresión de la disfunción multiorgánica y la mortalidad en la sepsis.

La intención de esta revisión es ofrecer un contexto biológico breve, fisiopatológico, y en torno a la evidencia disponible del rol actual del glicocáliz en la sepsis como herramienta diagnóstica, pronóstica y objetivo farmacológico.

^{*}Médico Posgradista de Medicina Crítica.

[†]Médico Especialista en Medicina Crítica, Magíster en Investigación Clínica y Epidemiología.

⁺⁺Médico Especialista en Medicina Crítica, Magíster en Epidemiología y Salud Colectiva.

[‡]Médico Especialista en Medicina Crítica.

[§]Médico Especialista en Medicina Crítica

[§] Médico Posgradista de Medicina Crítica.

Biología de la capa superficial endotelial o “ESL” (endothelial surface layer)

La capa superficial endotelial es un sistema vascular único clave en la armonía entre la célula endotelial y el plasma sanguíneo, definida como una estructura vascular multicapa heterogénea entre los diferentes órganos [3], cuya integridad y funcionalidad es estrictamente regulada por el cito esqueleto endotelial y el glicocáliz.

Glicocáliz

Es una capa gelatinosa de 0,2 a 0,5 μm de grosor que recubre el ESL, constituida por proteoglicanos que difieren por el tamaño de su núcleo proteico (sindecano, perlecan, glipicano); estas son moléculas con tres dominios: Extraendotelial, transmembrana e intracitosol con capacidad de ser fosforilado, es decir iniciar procesos de señalización intraendotelial. Además, cargados negativamente por glicosaminoglicanos (ácido hialurónico, dermatán sulfato y heparán sulfato en un 50 a 90%) que cubren la mayoría de células endoteliales en el cuerpo humano [4], esta estructura compleja evita el contacto innecesario de células plasmáticas (plaquetas, leucocitos), macro y micro moléculas entre el plasma y el endotelio; sin embargo conserva la posibilidad de enlazar proteínas plasmáticas (albumina) y glicosaminoglicanos solubles que mantienen su armonía fisiológica.

Crítico en la regulación y correcto funcionamiento de:

- Hemostasia
- Sensor vasomotor
- Inmunología – Inflamación
- Barrera

Fisiopatología aplicada a la sepsis

En esta sección se revisará los mecanismos conocidos hasta el momento por los cuales la injuria al glicocáliz, en el contexto de la sepsis genera: inflamación desregulada, vasoplejía, edema, y trastorno de la hemostasia

Daño del glicocáliz sinónimo de inflamación persistente

La inflamación local o sistémica origina cambios en la estructura y fisiología del glicocáliz en las etapas iniciales de la sepsis con el subsecuente daño endotelial, de no generarse una reparación adecuada del mismo, genera una inflamación persistente.

A continuación, describimos los mecanismos

- Sobreexpresión de moléculas adherencia.
- Teoría de la Heparanasa.

Sobreexpresión de moléculas adherencia

En el contexto de la sepsis una vez activa la inmunidad innata frente a los PAMPs; los neutrófilos-monocitos cumplen un rol fundamental en el control del patógeno en un equilibrio armónico entre factores inflamatorios y antiinflamatorios, roto este equilibrio y ante la presencia de IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α desregulada, y otras como bradicinina, histamina, trombina, VEGF dan como resultado la exteriorización y sobreexpresión de ICAM-1 y VCAM-1 (fisiológicamente cubiertas por el glicocáliz). Estudios demuestran el incremento proporcional de moléculas de adhesión celular y citoquinas [5], siendo más evidente en la sepsis más hiperglicemia [6], que promueven el rodamiento, adherencia y migración de leucocitos proceso denominado como diapédesis, con el subsecuente incremento del daño tisular por mayor estrés oxidativo [7], este mecanismo lo hacen a través de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS / RNS) y liberando proteasas de sus gránulos de almacenamiento. Los ROS / RNS son capaces de degradar los glicosaminoglicanos y proteoglicanos y pueden potenciar la proteólisis del glicocalix a través de la proteasa que son importantes mediadores liberados y activados durante condiciones inflamatorias. Estos incluyen especialmente MMP y elastasa de neutrófilos que curiosamente se ha demostrado que las MMP tenían una alta afinidad por heparán sulfato. [7]

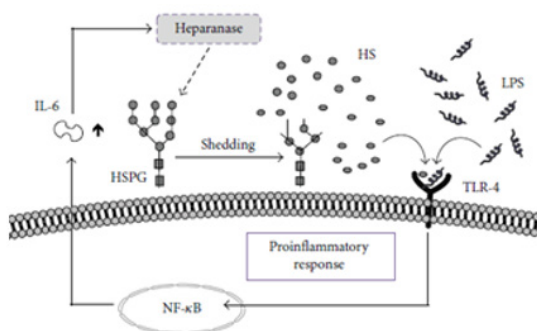
Como resultado final mayor degradación del glicocalix, que genera fuga capilar (edema), alteración de la hemostasia (microtrombosis), pérdida del tono vascular (vasoplejía); que se han relacionado con mayor disfunción orgánica y mortalidad [8]

Teoría de la Heparanasa

Heparanasa es una pro enzima con un peso molecular de 50-KDa, que se activa por citoquinas pro inflamatorias (IL-6) [9]. La Heparanasa – 1, [10] es la única forma conocida en el humano, esta enzima es altamente específica en la degradación de heparán sulfato de los proteoglicanos del glicocáliz, genera liberación de grandes cantidades de heparán sulfato a la circulación sanguínea que se convierten en DAMPs al tomar contacto con TLR-4 [11], potenciando al estado inflamatorio inicial al generar activación

adicional de la vía NF-κB, como resultado una inflamación persistente ocasionando mayor lesión endotelial. Figura 1.

Figura 1. Heparanasa- 1 [LukasMartin, Patrick Koczera]



Daño del glicocálix sinónimo de vasoplejía

El endotelio regula el calibre de los vasos sanguíneos a través de la contracción de las células musculares lisas mediante el óxido nítrico y la endotelina, proceso denominado control miógeno vascular [4], en este proceso participa el glicocálix siendo un transductor mecánico del estrés endotelial. La degradación del glicocálix obstaculiza la detección del estrés vascular puro; por lo que podría generar una producción sostenida de ON (óxido Nítrico) endotelial o inducible, generando vasodilatación patológica exponencial al sumarle el mecanismo de comunicación inter endotelial [12]; cruce de información a distancia resultando en una sostenida vasodilatación sistémica en la sepsis. Estudios han demostrado estos incrementos plasmáticos de endotelina y óxido nítrico en choque séptico [13].

Daño del glicocálix sinónimo de edema intersticial

Los mecanismos que generan edema intersticial en la sepsis por injuria del glicocálix son:

- Barrera endotelial
- Modelo de permeabilidad paracelular

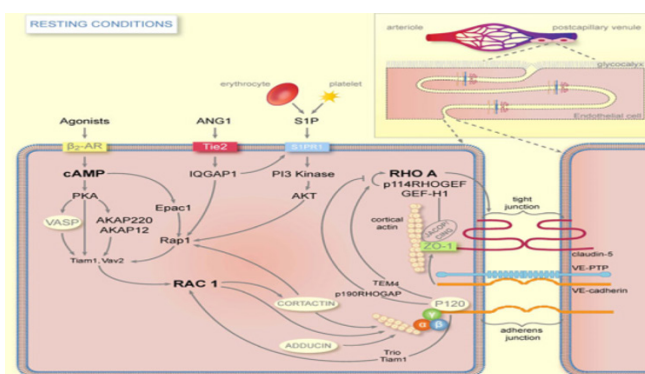
Barrera endotelial

En condiciones de reposo, la función de barrera endotelial microvascular se mantiene mediante (TJ) uniones fuertes endoteliales que se estabilizan mediante (AJs) uniones adherentes en el espacio intercelular y mediante la capa superficial de glicocalix que cubre la hendidura. La integridad de (AJs) está controlada por el estado de fosforilación de las caderinas endoteliales vasculares para el que se requiere un conjunto específico de fosfatasa, como VE-PTP, por ejemplo. Tanto los TJ como los AJ se anclan al citoesqueleto endotelial conformado por

actina cortical a través de varias proteínas adaptadoras como GEF y GAP; previamente moduladas por GTPasas como Rac1 y RhoA en su estado inactivo. Todo este proceso contribuye a una barrera intacta. Sin embargo, Rac1 es la molécula de señalización central que estabiliza las uniones, al menos en parte, mediante la regulación de las ABP y es el objetivo de señalización extracelular que incluyen S1P y Ang-1; vías relacionadas directamente con la estabilidad de la membrana.

Las vías de señalización que activan Rac1 convergen en los GEFs, Tiam1, Vav2 que producen altas concentraciones de AMPc, que en condiciones basales garantizan la norma función de las vías de señalización, en un concierto armónico de integridad endotelial [14]. Figura 2.

Figura 2. Barrera endotelial en reposo [Radeva MY, Waschke J]



En sepsis los mediadores inflamatorios aumentan la permeabilidad paracelular de las vénulas poscapilares principalmente a través de la apertura de (TJ) y (AJs) endoteliales, lo que provoca la formación de un espacio intercelular. Dos mecanismos principales impulsan este escenario.

- La fosforilación de los componentes de las uniones fuertes.
- Desequilibrio de la señalización de Rac1 / Rho A.

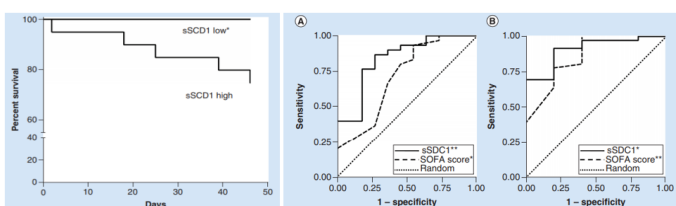
Ambos conducen al endocitosis de las caderinas y las pérdidas de las uniones intercelulares generando un espacio intercelular que refleja fuga de líquido y solutos.

La fosforilación de las caderinas endovasculares se realizan mediante la vía SRC por unión del VEGF a su receptor VEGF-R2 junto con otras quinasas. Sin embargo, el paso crítico es la inactivación de Rac1 y la sobre activación de Rho A que puede potenciar las fuerzas contráctiles, ejerciendo tensión e induciendo la reorganización de AJ en un proceso para el cual

En uno de los principales estudios con mayor número de pacientes hasta el momento, realizado por J. Steppan, S. Hofer (2011) [5]; Con 104 pacientes con sepsis severa y choque séptico de foco abdominal, 28 pacientes quirúrgicos y 18 voluntarios jóvenes sanos, demuestran niveles de sindecano -1 elevados en el grupo séptico y quirúrgico, en relación al grupo control; además los pacientes sépticos muestran niveles más altos de sindecano-1 paralelo con elevación de interleucina 6, VCAM-1 e ICAM-1 demostrando relación directa con estado inflamatorio. Esto se ha corroborado en otros estudios de población más pequeños [20], [21].

Además, Maximilian Holzmann, y Martin Winkler (2018) [22]. Incluyen 55 pacientes de cirugía abdominal mayor 24 con cirugía oncológica electiva y 31 duodectomía pancreática, 22% desarrollaron sepsis, el 11% murieron (todos con choque refractario y disfunción multiorganica). Con un corte de 27.1 ng/ml Sindecano -1 medido el primer día se correlacionó como predictor de incremento de mortalidad, con 48ng/ml medido el primer día tiene una curva ROC de 0.84 (0.68 – 0.98) para predecir progresión a Sepsis; Con 91 ng/ml tiene una curva ROC de 0.91 (0.70-0.99) que predice mortalidad a los 25 días comparado con SOFA mayor de 4 puntos con unas curvas ROC de 0.71 y 0.86 respectivamente. Figura 6.

Figura 6. Kaplan Meyer sobrevida con altos y bajos niveles de Sindecano -1 y Curvas ROC de Sindecano -1 como predictor de sepsis, y mortalidad a los 25 días [22]



Lo mencionado en el estudio anterior se corrobora con otro estudio reciente realizado por Mitsunori Ikeda, Hisatake Matsumoto (2018), [23] niveles altos de sindecano -1 el primer día se correlacionan con mayor mortalidad a los 28 días con un AUROC de 0.85, y mayor gravedad (SOFA y APACHE). Interesantemente en este estudio [23], demuestran que la medición en el día 1 muestra un fuerte poder predictivo de coagulo Patía intravascular diseminada con un AUROC de 0.79.

Con la evidencia disponible al momento nos indica que sindecano -1 medido el primer día con los cortes ya mencionados en el paciente séptico de varias

etiologías muestra una correlación muy buena como predictor de mortalidad y severidad. Más interesante aún se asocia como un buen predictor de progresión a sepsis, sin embargo, cabe mencionar que se requiere estudios con mayor cantidad de pacientes, para confirmar estos resultados que podrían facilitar el diagnostico e intervenciones más tempranas en pacientes de riesgo.

Heparán sulfato

En el estudio de J. Steppan, S. Hofer [5], previamente citado de sepsis y choque séptico también evidenciaron una correlación directa entre heparán sulfato plasmático e interleucina 6 en el grupo séptico y quirúrgico.

Además, en otro estudio más reciente por A. Nelson et al. [24] (2014) con 24 pacientes con sepsis y choque séptico y 24 pacientes control (neuroquirurgicos), midieron glicosaminoglicanos evidenciando niveles altos de heparán sulfato en el grupo de choque séptico, demostrando que se asocian como predictor de mortalidad a los 90 días, y se correlacionan de forma paralela con actividad inflamatoria (IL -6 IL -1).

Sin embargo, los mismos autores de mencionados estudios destacan la cantidad pequeña de pacientes, por lo que estudios a mayor escala requieren para confirmar los resultados mencionados.

Endocano

Endocano es una glicoproteína del glicocalix, que se expresa de forma preferencial a nivel de los vasos pulmonares, ha sido propuesto como un biomarcador prometedor, probablemente útil como una herramienta diagnóstica, predictor de mortalidad y severidad en dos escenarios principalmente.

- Sepsis y choque séptico.
- Síndrome de distrés respiratorio agudo.

En sepsis y choque séptico en el trabajo de Pauly D, Hamed S [25]. En un total de 150 pacientes: 15% sepsis, 23% sepsis severa, y 61% de choque séptico determinan que el endocan como herramienta diagnóstica para sepsis severa tiene una curva ROC de 0.66 y en choque séptico una curva ROC de 0.74 comparado con (PCT) procalcitonina AUROC= 0.83 en el día 1.

En consecuencia, los autores dan como niveles de corte las siguientes sepsis > 1.8 ng / mL, sepsis grave > 2.6 ng / mL, y shock séptico >2.9 ng / mL). Y

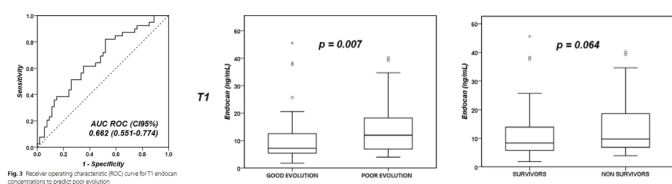
como herramienta pronóstica los niveles de endocan medidos el primer día predicen de mortalidad tanto a los 30 días (AUC 0.63) y a los 6 meses (AUC = 0.65).

Sin embargo, otros estudios evidencian mayor utilidad diagnóstica y pronóstica del endocano. (Sheng-Yuan Hsiaoa, b, Chia-Te Kung - 2018) [26] en 153 pacientes con sepsis severa determinan una curva ROC de 0.75 como predictor de mortalidad a partir del corte de 6.28 ng/ml y por cada un punto de ascenso determina 11.1% de incremento en la tasa de mortalidad. Así como Zhao R. Dong S [27] en (104 pacientes con sepsis) con un corte de 4.37 ug/L de endocano establece una curva ROC de 0.88 versus 0.84 con procalcitonina para el diagnóstico de sepsis, y una curva ROC de 0.91 de endocan como predictor de mortalidad a los 28 días versus 0.76 con procalcitonina.

El Síndrome de distrés respiratorio agudo aún mantiene una alta mortalidad 35 a 40% [28], para categorizar la severidad de este síndrome se usa la PaFIO2, que además gatilla la optimización de su manejo con varias estrategias ya establecidas, sin embargo, el poder pronóstico de esta variable permanece aún baja con un AUROC de 0.58 (0.56-.59) [29]. Por lo que nuevos biomarcadores son necesarios que permitan una mejor categorización en un síndrome tan heterogéneo.

En este contexto, estudios sugieren una asociación entre niveles altos de endocano y falla respiratoria aguda [30], sin embargo, en un trabajo reciente realizado por Diego Orbezo, Lokmane Rahmania [31] (2017), en 96 pacientes encontraron que el endocano en SDRA tiene una baja sensibilidad y moderada especificidad medidos a las 24 horas con un corte de 6 ng/mL y de 14 ng/ml, para predicción de pobre evolución con una curva ROC de 0.66 (0.55-0.74), y no evidenciaron correlación con mortalidad.

Figura 7. Endocan curva ROC para predicción de mala evolución; C, Diagrama de cajas, Endocan en sobrevivientes y no sobrevivientes. [31]



Todos estos biomarcadores son prometedores, aún es necesario definir en un contexto clínico adecuado, el nivel de corte, y utilidad ya sea como medida

pronóstica, diagnóstica u objetivo de reanimación. La disponibilidad científica en humanos aun es pequeña, el optimismo que ha generado en el campo experimental en animales aún no ha sido plasmado en beneficios concretos para el ser humano.

Enfoque traslacional

Al inducir sepsis en ratones mediante LPS han evidenciado de forma temprana a nivel endotelial: activación de neutrófilos, adhesión, migración y aumento de la permeabilidad vascular tanto a nivel glomerular como peri tubular con una disfunción en los mecanismos de regulación local del tono capilar ocasionando una heterogeneidad en la perfusión renal, todo esto en una vía común para la progresión rápida hacia una lesión renal aguda.

El contexto fisiopatológico aun no es bien entendido en relación a la falla renal aguda en el paciente séptico, podría estar en relación a la degradación del glicocalix, en ratones sujetos a sepsis inducida hay una fuerte correlación entre aumento de albumina urinaria, cambios estructurales en la barrera de filtración glomerular y disminución de la expresión de sindecano -1 y ácido hialurónico. El restablecer la integridad endotelial es un área de rápida expansión científica; Wang et al. [33] demostraron que el agonista S1P1 SEW2871 fue capaz de reducir la permeabilidad microvascular renal y restablecer la perfusión capilar peritubular en modelos murinos. Estos hallazgos vinculan la estimulación de S1P1 con la reparación de la microcirculación y la preservación de la función renal en modelos sépticos.

La pérdida de las defensas antioxidantes en el glicocalix hace que la terapia antioxidante sea un candidato lógico para proteger la ECL. De hecho, la adición de catalasa y SOD puede bloquear la degradación del glicocalix. Aun así, los ensayos clínicos aleatorizados no han demostrado de manera concluyente que los antioxidantes generalizados mejoran los resultados en pacientes sépticos. Una posible razón para los resultados mixtos de los estudios de antioxidantes puede ser un objetivo ineficaz de la terapia antioxidante. A este respecto, varios estudios en animales han probado la administración dirigida, y han demostrado, por ejemplo, que la SOD conjugada con anticuerpos dirigidos a endosomas endoteliales tuvo efectos beneficiosos en ratones expuestos a endotoxinas [34]. Patil et al. [35] probaron antioxidantes dirigidos a

la mitocondria, MitoTEMPO, en ratones inducidos sepsis, y encontraron una mejor función del órgano y una mayor supervivencia.

Otra área emergente de interés es la posibilidad de dirigir los mecanismos de reparación endotelial con células progenitoras endoteliales, pero, aunque prometedora, todavía hay mucho por conocer.

Aunque controvertido en sepsis, hay varias líneas de evidencia para sugerir los efectos protectores de los esteroides sintéticos en el endotelio [36]. Se ha demostrado que los corticosteroides protegen el glicocáliz y la dexametasona ha demostrado ser beneficioso para proteger la microcirculación renal [37]. Sin embargo, la acción protectora de los esteroides sintéticos en la función del endotelio celular, pueden ser neutralizados por la excesiva presencia de NO, que puede bloquear el receptor de glucocorticoides.

La función de barrera endotelial alveolar también está regulada por miembros de la familia conexina (Cx), que forman canales funcionales de unión en el endotelio y permiten el flujo célula a célula de pequeñas moléculas y solutos [38]. La inhibición de esta Cx evita el aumento de la permeabilidad endotelial observado en un modelo experimental de lesión pulmonar.

El glicocáliz establece una frontera muy amplia de posibles objetivos farmacológicos, el gran salto en la investigación científica de los resultados alentadores en estudios experimentales en animales (murinos); como inhibición de la Heparanasa [32], o estimulación de receptores como S1P, esfingosina-1-fosfato con la subsecuente activación de la vía Rac – 1 que genera una reparación de los núcleos proteicos sindecano-1; ah un beneficio en la humanidad es necesario.

CONCLUSIONES

- Una estructura de micras de diámetro que recubre todas las células endoteliales; Glicocáliz podría ser la llave de la microcirculación el punto de fractura entre la regulación y la desregulación de la inflamación en la sepsis, su reconstitución pone en orden la homeostasis de las células endoteliales en el cuerpo humano, en procesos críticos como es el tono vascular, la homeostasis de la coagulación, el flujo de líquidos/solutos y el control de la inflamación. Sus compuestos de degradación podrían ser herramientas útiles no solo como diagnósticas, más bien marcadores tempranos de progresión

a sepsis, su poder predictivo de mortalidad los vuelve en posibles guías de reanimación temprana dirigida a la microcirculación. Y en el detalle de sus vías moleculares innumerables objetivos farmacológicos que en el tiempo y escenario clínico correcto podrían dar un giro a la batalla estacionaria que llevamos en las unidades de terapia intensiva en relación a la mortalidad de choque séptico 40%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. M. Singer, C. S. Deutschman, C. W. Seymour et al., “The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3),” *The Journal of the American Medical Association*, vol. 315, no. 8, pp. 801–810, 2016.
2. M. E. Bianchi, “DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger,” *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 81, no. 1, pp. 1–5, 2007.
3. Aird WC. Endothelial cell heterogeneity. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012; 2: a006429. [PubMed: 22315715].
4. Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng*. 2007; 9:121–167. [PubMed: 17373886].
5. Steppan J, Hofer S, Funke B, Brenner T, Henrich M, Martin E, et al. Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalyx. *J Surg Res*. 2011; 165:136–41.
6. Gunst J, Derese I, Aertgeerts A, Ververs EJ, Wauters A, Van den Berghe G, et al. Insufficient autophagy contributes to mitochondrial dysfunction, organ failure, and adverse outcome in an animal model of critical illness. *Crit Care Med*. 2013; 41:182–94.
7. Karamysheva AF. Mechanisms of angiogenesis. *Biochemistry (Mosc)*. 2008; 73:751–62.
8. B.F. Becker, D. Chappell, D. Bruegger, T. Annecke, and M. Jacob, “Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential,” *Cardiovascular Research*, vol. 87, no. 2, pp. 300–310, 2010.
9. G. Chen, D. Wang, R. Vikramadithyan et al., “Inflammatory cytokines and fatty acids regulate endothelial cell heparanase expression,” *Biochemistry*, vol. 43, no. 17, pp. 4971–4977, 2004.
10. R. Goldberg, A. Meirovitz, N. Hirshoren et al., “Versatile role of heparanase in inflammation,”

- Matrix Biology, vol. 32, no. 5, pp. 234–240, 2013.
11. K. J. Goodall, I.K.H. Poon, S. Phipps, and M.D. Hulett, “Soluble heparan sulfate fragments generated by heparanase trigger the release of pro-inflammatory cytokines through TLR-4,” *PLoS ONE*, vol. 9, no. 10, Article ID e109596, 2014.
 12. Bolon ML, Peng T, Kidder GM, Tymiński K. Lipopolysaccharide plus hypoxia and reoxygenation synergistically reduce electrical coupling between microvascular endothelial cells by dephosphorylating connexin40. *J Cell Physiol*. 2008; 217:350–359. [PubMed: 18521823].
 13. Forni M, Mazzola S, Ribeiro LA, Pirrone F, Zannoni A, Bernardini C, Bacci ML, Albertini M. Expression of endothelin-1 system in a pig model of endotoxic shock. *Regul Pept*. 2005; 131:89–96. [PubMed: 16043243].
 14. Send to *Acta Physiol (Oxf)*. 2018 Jan;222(1). doi: 10.1111/apha.12860. Epub 2017 Mar 22. Mind the gap: mechanisms regulating the endothelial barrier. Radeva MY1, Waschke J1.
 15. Woodcock TE, Woodcock TM. Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: an improved paradigm for prescribing intravenous fluid therapy. *Br J Anaesth*. 2012; 108:384–94.
 16. Serpa Neto A, Veelo DP, Peireira VG, de Assunção MS, Manetta JA, Espósito DC, et al. Fluid resuscitation with hydroxyethyl starches in patients with sepsis is associated with an increased incidence of acute kidney injury and use of renal replacement therapy: a systematic review and meta-analysis of the literature. *J Crit Care*. 2014; 29:185. e1-7.
 17. Caironi P, Tognoni G, Masson S, Fumagalli R, Pesenti A, Romero M, et al. Albumin replacement in patients with severe sepsis or septic shock. *N Engl J Med*. 2014; 370:1412–21.
 18. Endothelium—role in regulation of coagulation and inflammation Victor W. M. van Hinsbergh *Semin Immunopathol* (2012) 34:93–106 DOI 10.1007/s00281-011-0285-5.
 19. S. R. Ostrowski, R. M. G. Berg, N. A. Windeløv et al., “Coagulopathy, catecholamines, and biomarkers of endothelial damage in experimental human endotoxemia and in patients with severe sepsis: a prospective study,” *Journal of Critical Care*, vol. 28, no. 5, pp. 586–596, 2013.
 20. M. Sallisalmi, J. Tenhunen, R. Yang, N. Oksala, and V. Pettilä, “Vascular adhesion protein-1 and syndecan-1 in septic shock,” *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, vol. 56, no. 3, pp. 316–322, 2012.
 21. Syndecan-1 as a biomarker for sepsis survival after major abdominal surgery. Holzmann MS, Winkler MS, Strunden MS, Izbicki JR, Schoen G, Greiwe G, Pinnschmidt HO, Poppe A, Saugel B, Daum G, Goetz AE, Heckel K. *Biomark Med*. 2018 Feb;12(2):119-127. doi: 10.2217/bmm-2017-0231. Epub 2018 Jan 12.
 22. *J Crit Care*. 2018 Feb;43:48-53. doi: 10.1016/j.jcrc.2017.07.049. Epub 2017 Jul 28. Circulating syndecan-1 predicts the development of disseminated intravascular coagulation in patients with sepsis. Ikeda M1, Matsumoto H2, Ogura H3, Hirose T4, Shimizu K5, Yamamoto K6, Maruyama I7, Shimazu T8.
 23. A. Nelson, I. Berkestedt, and M. Bodelsson, “Circulating glycosaminoglycan species in septic shock,” *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, vol. 58, no. 1, pp. 36–43, 2014.
 24. *J Crit Care*. 2016 Feb;31(1):68-75. doi: 10.1016/j.jcrc.2015.09.019. Epub 2015 Sep 25. Endothelial cell-specific molecule-1/endocan: Diagnostic and prognostic value in patients suffering from severe sepsis and septic shock. Pauly D1, Hamed S1, Behnes M1, Lepiorz D1, Lang S1, Akin I1, Borggrefe M1, Bertsch T2, Hoffmann U3.
 25. Concentration and value of endocan on outcome in adult patients after severe sepsis. Hsiao SY, Kung CT, Tsai NW, Su CM, Huang CC, Lai YR, Wang HC, Cheng BC, Su YJ, Lin WC, Chiang YF, Lu CH. *Clin Chim Acta*. 2018 Aug; 483:275-280. doi: 10.1016/j.cca.2018.05.007. Epub 2018 May 8.
 26. Send to *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2017 Apr;29(4):321-326. doi: 10.3760/cm.a.j.issn.2095-4352.2017.04.007. [Clinical value of serum endocan and procalcitonin in early diagnosis and prognosis evaluation of sepsis].
 27. Bellani G, Lafey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries. *JAMA*. 2016; 315:788–800.
 28. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, et al. Acute

- respiratory distress syndrome: The Berlin definition. *JAMA*. 2012; 307:2526–33. 22561459].
29. Tang L, Zhao Y, Wang D, Deng W, Li C, Li Q, et al. Endocan levels in peripheral blood predict outcomes of acute respiratory distress syndrome. *Mediators Inflamm*. 2014; 2014:625180.
 30. Endocan as an early biomarker of severity in patients with acute respiratory distress syndrome. Orbegozo D, Rahmania L, Irazabal M, Mendoza M, Annoni F, De Backer D, Creteur J, Vincent JL. *Ann Intensive Care*. 2017 Sep 7;7(1):93. doi: 10.1186/s13613-017-0311-4.
 31. L. Martin, R. De Santis, P. Koczera et al., “The synthetic antimicrobial peptide 19-2.5 interacts with heparanase and heparan sulfate in murine and human sepsis,” *PLoS ONE*, vol. 10, no. 11, Article ID e0143583, 2015.
 32. Ye Zeng,¹ Roger H. Adamson,² Fitz-Roy E. Curry,² and John M. Tarbell¹, Sphingosine-1-phosphate protects endothelial glycocalyx by inhibiting syndecan-1 shedding *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 306: H363–H372, 2014.
 33. Patil NK, Parajuli N, MacMillan-Crow LA, Mayeux PR. Inactivation of renal mitochondrial respiratory complexes and manganese superoxide dismutase during sepsis: mitochondria-targeted antioxidant mitigates injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2014; 306(7): F734–F743. [PubMed: 24500690].
 34. Legrand M, Kandil A, Payen D, Ince C. Effects of sepiapterin infusion on renal oxygenation and early acute renal injury following supra-renal aortic clamping in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2011; 58:192–198. [PubMed: 21562427].
 35. Chappell D, Jacob M, Hofmann-Kiefer K, Bruegger D, Rehm M, Conzen P, Welsch U, Becker BF. Hydrocortisone preserves the vascular barrier by protecting the endothelial glycocalyx. *Anesthesiology*. 2007; 107:776–784. [PubMed: 18073553].
 36. Johannes T, Mik EG, Klingel K, Dieterich HJ, Unertl KE, Ince C. Low-dose dexamethasone supplemented fluid resuscitation reverses Endotoxin-induced acute renal failure and prevents cortical microvascular hypoxia. *Shock*. 2009; 31:521–528. [PubMed: 18827749].
 37. Parthasarathi K. Endothelial connexin43 mediates acid-induced increases in pulmonary microvascular permeability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2012; 303: L33–L42. [PubMed: