グリコカリックス障害と臓器微小循環

射場敏明*

Glycocalyx damage and microcirculatory disturbance

Toshiaki IBA

要約：血管内皮上に存在するグリコカリックスは、1)血球と血管内皮の摩擦を軽減し円滑な血液循環を維持する、2)血管内腔の抗血栓性を維持する、3)血管透過性の調節を行う、4)血漿蛋白を保持するなどの重要な役割を担っている。グリコカリックスは極めて脆弱な構造体であるがゆえに、様々な生体侵襲によって容易に障害され、結果として生じる組織循環障害の成立に深く関わっている。グリコカリックスの急性障害は、これまで敗血症を中心に研究されてきたが、最近になって外傷をはじめとする非感染性疾患においてもみられることが注目され、*endotheliopathy* として多くの研究報告が行われているようになっている。今回はグリコカリックス障害と微小循環障害の密接な関係について最近の知見を紹介する。

Key words: glycolcalyx, endothelial cell, syndecan, hyaluronan, heparan sulfate

はじめに

細胞の表面を覆う構造物であるグリコカリックスの存在は1970年前後から知られていたが、当初は腸粘膜の絨毛から分泌される粘液として認知されていた。続いて肺胞上皮やリンパ管における存在が確認され、1980年代になると血管内皮表面にもグリコカリックスが存在することが明らかにされた。しかし血管内皮のグリコカリックスと疾病との関係が注目されるようになったのは2000年代になってからで、以後直線的に研究報告数が増加して現在に至っている。この脆弱な構造物は血流の存在下でのみ正常な状態を維持することが可能であり、血流の低下や途絶に伴って速やかに減少する。また組織学的検討に必要な固定、染色の過程でも容易に破壊されることから、長らく観察が不可能であった。しかし2010年頃になると検体処理を工夫することによって、また蛍光顕微鏡や電子顕微鏡を用いることによって形態観察が盛んに行われるようになってき

た。最近ではさらに手技が改善されて一層詳細な観察が可能になっている¹⁾。また同時にシンデカンやヒアルロン酸の濃度測定が一般研究室レベルでも可能になり、一気に研究は飛躍しつつある。本論文ではここ数年の進歩に焦点を絞って解説を行う。

1. グリコカリックスの生理的機能

血管内皮細胞の表面はプロテオグリカンやグリコプロテインなどの膜結合部分(コアタンパク)を木の幹とし、ヘパラン硫酸やコンドロイチン硫酸などのグリコサミノグリカン(糖鎖構造)を枝葉、そして幹とは直接つながっていないツタに相当するヒアルロン酸などの糖鎖、および水分とともにそれらに含まれる血漿タンパクで構成される、グリコカリックスと称される構造体で覆われていることは以前本誌の特集で紹介した通りである(図1)²⁾。このグリコカリックスの生理的役割は、まず血球と血管内皮との摩擦抵抗を軽減することであると考えられている。このことは糖鎖構造が海藻や魚の鱗のぬめりと類似の構造であることから容易に想起される。流体力学上、循環血液中の血球細胞のうち、サイズの大きい白血球は流れの速い中心部を、次に赤血球は中央部を、血小板のような小さな血球は流れの遅い血

*責任者連絡先：
順天堂大学救急・災害医学
〒113-8421 東京都文京区本郷2-1-1
Tel: 03-3813-3111, Fax: 03-3814-5431
E-mail: toshiiba@juntendo.ac.jp

図1 血管内皮におけるグリコカリックスの構造

血管内皮細胞状にはグリコカリックスと称される構造が存在する。グリコカリックスを構成しているのはシンデカンやグリピカンに代表される細胞膜に固定したプロテオグリカンと、接着分子などのグリコプロテイン、それにシンデカンに結合するヘパラン硫酸やコンドロイチン硫酸などの糖鎖構造(glycosaminoglycan)、およびシンデカンとは直接結合しない糖鎖であるヒアルロン酸などである。プロテオグリカンの代表であるシンデカンは膜を貫通し、さらに細胞内の細胞骨格に結合して張り応力などの機械的刺激を内皮細胞に情報として伝達している。そしてヘパラン硫酸にはアンチトロンビンや成長因子、サイトカイン類が結合し、それぞれの結合刺激がコアプロテインの細胞内ドメインを介して、内皮細胞に情報伝達されることが知られている。

図2 グリコカリックスの生体顕微鏡下観察

正常な毛細血管血流は赤血球円柱として観察されるが、円柱と血管内皮の間には一定のスペースが観察され、これがグリコカリックスの厚みに相当する。上段：血管内にエバンスブルーを注入し、グリコカリックスを薄くブルーに染色している。下段：炎症惹起モデルにおいては、グリコカリックス構造が菲薄化し、赤血球円柱との間隙が消失していることがわかる。また血球の移動速度が低下し、白血球が血管内皮上に接着しているところが観察できる。

管辺縁部を移動することになるが、その際これらの血球と血管内皮との直接的なコンタクトは血流抵抗を増すことになるので、生体としてはできるだけこれを避けたいところであろう(図2)。グリコカリックスはいわゆる内皮をカバーするワックスとして存在し、摩擦抵抗を減弱させてスムーズな血流維持に機能していると考えられている。興味深いのは、白血球系免疫細胞についてはグリコカリックスに含まれるケモカインによって特定部位への遊走が刺激されるという報告がみられることで、内皮はグリコカリックスを用いて必要な細胞を選択的に接着、遊走させていることが想像できる³⁾。そしてこのあたりは癌細胞の転移との関連においても興味深いところである。一方、木の幹に相当するシンデカンやグリピカンに代表されるプロテオグリカン、アクチンに代表される内皮細胞内の細胞骨格と結合しており、メカノセンサーとしてずり応力や血圧を感知して細胞に情報伝達するアンテナの役割も担っている。そしてこれが血管収縮物質や一酸化窒素などの産生調整を介して、血管収縮や拡張をはじめとする内皮機能の制御や血管壁のリモデリングなどに深く関わっていることが明らかにされている^{4,5)}。さらに最近の研究によれば、グリコカリックスの糖鎖構造は細胞膜の変形能にも関与しているらしく、例えば糖鎖構造のうちムチンは、マイクロベジクルの放出などに関連しているとのことである^{6,7)}。マイクロベジクルは細胞から切り出される細胞膜に包まれた、いわば細胞の断片であるが、細胞間の情報伝達に機能していると考えられている。マイクロベジクルの切り出しは、細胞骨格の変化を契機にして細胞膜の張り出しへとつながっていくが、細胞表面におけるムチンの存在はこの細胞膜の張り出し、伸張を助けているようである。また隣接する内皮細胞との間、内皮細胞裂(endothelial cleft: ETC)に存在するグリコカリックスは透過性の制御に重要な役割を担っており、水分や血漿タンパクの移動については、その存在抜きに単に圧格差や濃度勾配のみでは理解することができないことが明らかにされた。さらに内皮の最も大切な機能のひとつである抗血栓性の維持に関しては、豊富に存在するヘパラン硫酸とこれに結合するアンチトロンビンの存在が注目されており、現在活発に研究が進められている^{8,9)}。

2. バイオマーカーとしてのグリコカリックス

グリコカリックスは脆弱な構造物であるがゆえに、様々な刺激によって容易に剝離し、血中に遊離する。そこでこのことを利用して血中を循環するグリコカリックスの各要素を測定し、病態の解明や重症度診断に役立てようとする試みがある。たとえば加齢、糖尿病や動脈硬化などの血管変性を生じる慢性疾患では、以前からこのような試みが行われて、その有用性が評価されてきたが、最近では敗血症や外傷、虚血・再灌流障害などの急性疾患においてもグリコカリックスの測定の重症度評価指標としての有用性が報告されるようになり、血管バイオマーカーとしての注目度が増している¹⁰⁾。グリコカリックスが血中に遊離するメカニズムとしては、敗血症においては好中球をはじめとする白血球系細胞が活性酸素種やエラスターゼに代表されるタンパク分解酵素を放出してコアタンパクを分解し¹¹⁾、また種々の細胞から放出されるヘパラーゼやヒアルロニダーゼ、マトリックスメタロプロテイナーゼなどの分解酵素はグリコサミノグリカンを分離するとされている¹²⁾。Reine ら¹³⁾は、糖尿病や炎症性疾患においてはIL-1 β 刺激によって増加したマトリックスメタロプロテイナーゼ9が糸球体のシンデカン-4の切り出しを行い、これが腎障害の発生と関連していることを報告している。さらにヒストンをはじめとする damage-associated molecular patterns(DAMPs)や補体の活性化がグリコカリックスの障害に重要であるとする報告もある¹⁴⁾。一方非感染性疾患としては、心肺停止後や外傷ショック、心血管手術などの低灌流状態、あるいは高血糖や高血圧などの化学的、物理的刺激、さらには輸液負荷や昇圧剤の使用といった治療の影響もグリコカリックスの障害を助長することが知られている^{15,16)}。

プロテオグリカンの主力をなすシンデカンファミリーには、4つのサブタイプがあり、それぞれのシンデカンには分布特性があって、たとえば血管内皮細胞の細胞間や基底膜側にはシンデカン-1、-2、-4の発現が認められる。このうちバイオマーカーとして最も広く測定されているのがシンデカン-1で、先に述べたように循環不全や輸液、カテコラミン投与などによる内皮障害にともなって血中レベルが増加す

ることが知られている^{17,18)}。シンデカン以外ではヒアルロン酸やヘパラン硫酸などにおいて同様に血管内皮障害マーカーとしての有用性が期待されている。

上述したグリコカリックス構成成分の血中循環レベル測定以外では、side-stream dark field (SDF) imaging technique を用いた、舌下毛細血管血流の生体顕微鏡下観察がある。グリコカリックスや血流の観察手技として革新的かつ非侵襲、簡便であり、繰り返し測定できるので病態の推移を観察することも可能である。敗血症においては有用性が認められるとする見解もあるが¹⁹⁾、一方で糖尿病においては、グリコカリックス幅の低値はみられるものの、心血管リスクとの関連は確認できなかったとする報告もあり²⁰⁾、臨床的な評価は一定していない。また舌下の血流が重要臓器の血流を反映しているのか否かについて疑問を呈する研究者もあり、さらなる検討が必要であろう²¹⁾。

血中を循環しているグリコカリックスには障害マーカーとしての意義以外に何らかの役割があるかと問われるならば、その答えはイエスである。おそらくグリコカリックスから逸脱した構成成分はその再生にも用いられるであろう²²⁾、また成長因子の働きを修飾することや情報伝達物質としての役割もあることが想定されている²³⁾。さらにはヘパラン硫酸はその高度の陰性荷電により、陽性に帯電しているヒストンと結合して DAMPS としての組織障害性を緩和することも報告されている²⁴⁾。

3. 各種病態とグリコカリックス

これまで慢性血管病変の発生機序に関しては未解明の部分が多く残されてきたが、ここに至りグリコカリックスとの関与が注目されるようになってきている。特に慢性血管炎症と捉えることもできる動脈硬化性疾患においては、以前から、すでに硬化性病変がみられる状態ではグリコカリックスが減少していることが報告されていたが、ここに至りプラーク形成以前の早い段階からグリコカリックスの障害があることが報告され、グリコカリックス障害と動脈硬化性病変の因果関係についても論じられるようになっていく²⁵⁾。また動脈血栓のみならず、静脈血栓

の発生に関してもグリコカリックス障害の関与が考えられている。血管障害の絡みでは、腎障害との関連が注目されており、糖尿病におけるグリコカリックス障害と糸球体障害の関連が報告されている²⁶⁾。

次に急性血管炎症である感染症とグリコカリックス障害の関係については、以前からグリコカリックスが血管内皮障害の指標として有望視されていた。Uchimido ら²⁷⁾は、敗血症においてみられる血中や尿中へのグリコカリックス構成成分の増加が血管透過性や臓器障害、重症度と関連することを報告している。そして障害臓器のうちでは、特に腎障害との関連が多数報告されている²⁸⁾。敗血症ではこのような感染に伴う急性血管炎症とともに、感染によってもたらされる高血糖状態、あるいは治療に用いられる輸液の過多によってもグリコカリックスの破壊がもたらされることに注意する必要がある。一方でアルブミンや新鮮凍結血漿はグリコカリックス保護的に働くと考えられている。そしてグリコカリックスの障害に伴う血管内凝固活性の亢進状態は敗血症にしばしば合併する播種性血管内凝固の誘因や促進因子となっていることは容易に想像される²⁹⁾。

細菌による感染以外では、Yeo ら³⁰⁾がマラリアにおいてグリコカリックス破壊と重症度の間に関連がみられることを報告しており、またウイルス感染においても障害がみられることが報告され、これらの感染症においては上述の細菌感染における障害以外のメカニズムの存在も想定される。

非感染性疾患である子癇前症は、高血圧やタンパク尿を主症状とする妊娠中合併症であるが、その発症にグリコカリックス、さらに血管内皮障害が関わっているとされている。Wiles ら³¹⁾は子癇前症の患者でヒアルロン酸や血管内皮障害の指標である vascular cell adhesion molecule (VCAM) の血中レベルが増加することを報告し、病態への関与を示唆している。さらに Weissegerber ら³²⁾もグリコカリックスは子癇前症の初期から障害されることを SDF imaging および血中シンデカン-1 やヘパラン硫酸レベルの増加で検証している。また子癇前症における腎障害との関係については van den Berg ら³³⁾が、腎糸球体のヒアルロン酸産生を抑制すると腎障害が生じることを報告しており、グリコカリックスと子癇、および腎障害発症の間には密接な関連があることがう

かがえる。

そして最近最も注目を集めているのが外傷におけるグリコカリックスの挙動である。外傷においては大量出血、ショックによる循環障害や組織障害にもなう DAMPs が、血管炎症や内皮障害を惹起し、シンデカン-1 をはじめとするグリコカリックスの構成要素が血中に逸脱することが知られており、最近では“*endotheliopathy*”という名称を用いて盛んに報告されている³⁴⁾。この *endotheliopathy* については、外傷初期にみられる線溶異常亢進や凝固異常状態 (*trauma-induced coagulopathy*) への関与が考えられており、病態の解明が待たれるところである。ここで注意しなければならないのは、一部の研究者は内皮上から剝離して血中を循環するヘパリン硫酸が凝固抑制的 (*internal heparinization*) に働き、これが同時にみられるトロンボモジュリンの逸脱によるプロテイン C の活性化とあいまって、外傷初期の出血傾向に寄与していると解釈していることである³⁵⁾。しかし、おそらくこれは誤りで、このようなヘパリン硫酸やシンデカンに代表されるグリコカリックス成分の増加や可溶性トロンボモジュリンの増加は、血管内皮機能障害を反映したものであり³⁶⁾、実際には血液凝固は亢進した状態にあるものと考えられる³⁷⁾。

以上に述べたグリコカリックスの障害は非外傷性ショックや循環停止症例、さらには臓器移植でみられる虚血・再灌流後でも起こることが知られており、グリコカリックスの障害には循環障害が関わっていることが示唆されている³⁸⁾。

4. グリコカリックスの保護的治療

グリコカリックスの病態への関与については多くの知見が得られているが、治療に関する進展に目覚ましいものがないのは残念である。グリコカリックスは血管リスクである高血圧や高脂血症、高血糖の影響を受けるため、慢性血管炎症においてはこれらの障害因子を取り除くことがグリコカリックスの恒常性維持に有効であろう³⁹⁾。グリコカリックスは高血糖時にみられる白血球の活性化状態において、おそらく血管内皮への白血球の接着を制御する役割を担っていると考えられているが⁴⁰⁾、一方で高血糖自

体はグリコカリックスを障害することが知られている⁴¹⁾、高脂肪食についても同様にグリコカリックス障害が起こり、これがマクロファージの血管への接着を誘導し、動脈硬化病変の形成につながっているという報告がある⁴²⁾。このような障害に対しては高血糖や高脂血症の是正による保護、予防以外の対策としてグリコカリックスの切り出しを行うヒアルロニダーゼなどのタンパク分解酵素の活性を阻害する試みも行われているが、注目すべきほどの効果はみられていないようである。

治療によるグリコカリックス障害については、輸液との関連が注目されている。輸液過多がグリコカリックスの障害因子となることは先に述べたとおりであるが、膠質液を用いることによってその障害性を緩和しようとする試みがある。実際に敗血症モデルにおいてはグリコカリックス保護効果と透過性の維持効果が得られたことが報告されている⁴³⁾。

グリコカリックスの重要な役割の一つが抗血栓性の維持であり、グリコカリックスはその構造にヘパリン類似物質を含むことから、ヘパリンをグリコカリックス保護のために用いるという試みがある。ヘパリンはグリコカリックス構造を安定化させ⁴⁴⁾、また炎症における障害因子であるヒストンの障害性を緩和する効果が期待される。しかしその有効性に関してはまだ一定の見解は得られていない⁴⁵⁾。

糖鎖構造に保持されるアルブミンをはじめとする血漿蛋白については、構造の安定化がみられるとしてグリコカリックスの保護効果が期待され、それに関する報告もみられる⁴⁶⁾。一方、生理的な抗凝固物質であるアンチトロンビンについては、これとは別の機序によるグリコカリックスの保護効果が期待されている。アンチトロンビンは、ヘパリンと共通の構造であるヘパリン硫酸のペンタサッカライドに結合することによって血管内皮表面の抗凝固活性を高めるとともに、グリコカリックス構造を安定化させることが報告されている⁴⁷⁾。

おわりに

血管障害は様々な疾患と関連しており、中でも内皮の重要な構成要素であるグリコカリックスに関する研究は急速な進展をみせている。今回は 2016 年

に組まれた前回の特集以降の発表を中心に紹介させていただいたが、PubMedでglycocalyxをキーワード検索すると2017年は150程度であったヒット件数が2018年には228件と1.5倍を超え、2019年は7月末の時点ですでに160件と加速度的に増加している状況である。そしてこの間、研究テーマは病態生理からバイオマーカーとしての有用性にシフトしているが、治療に関してはいまだ報告が少なく、今後の課題であると考えている。

著者の利益相反(COI)の開示：

研究費(受託研究, 共同研究, 寄付金等)(JIMRO, JB)

文献

- Okada H, Takemura G, Suzuki K, Oda K, Takada C, Hotta Y, Miyazaki N, Tsujimoto A, Muraki I, Ando Y, Zaikokuji R, Matsumoto A, Kitagaki H, Tamaoki Y, Usui T, Doi T, Yoshida T, Yoshida S, Ushikoshi H, Toyoda I, Ogura S: Three-dimensional ultrastructure of capillary endothelial glycocalyx under normal and experimental endotoxemic conditions. *Crit Care* **21**: 261, 2017.
- 射場敏明：グリコカリクスが関与する血管内腔の抗血栓性とその障害。血栓止血誌 **27**：444-449, 2016.
- Graham GJ, Handel TM, Proudfoot AEI: Leukocyte Adhesion: Reconceptualizing Chemokine Presentation by Glycosaminoglycans. *Trends Immunol* **40**: 472-481, 2019.
- Sáez P, Gallo D, Morbiducci U: Mechanotransmission of haemodynamic forces by the endothelial glycocalyx in a full-scale arterial model. *R Soc Open Sci* **6**: 190607, 2019.
- Bartosch AMW, Mathews R, Tarbell JM: Endothelial Glycocalyx-Mediated Nitric Oxide Production in Response to Selective AFM Pulling. *Biophys J* **113**: 101-108, 2017.
- Strzyz P: Bend it like glycocalyx. *Nat Rev Mol Cell Biol* **20**: 388, 2019, doi: 10.1038/s41580-019-0142-2.
- Shurer CR, Kuo JC, Roberts LM, Gandhi JG, Colville MJ, Enoki TA, Pan H, Su J, Noble JM, Hollander MJ, O'Donnell JP, Yin R, Pedram K, Möckl L, Kourkoutis LF, Moerner WE, Bertozzi CR, Feigenson GW, Reesink HL, Paszek MJ: Physical principles of membrane shape regulation by the glycocalyx. *Cell* **177**: 1757-1770.e21, 2019.
- Iba T, Levy JH: Derangement of the endothelial glycocalyx in sepsis. *J Thromb Haemost* **17**: 283-294, 2019.
- Iba T, Sasaki T, Ohshima K, Sato K, Nagaoka I, Thachil J: The comparison of the protective effects of α - and β -antithrombin against vascular endothelial cell damage induced by histone in vitro. *TH Open* **1**: e3-e10, 2017.
- Hippensteel JA, Uchimido R, Tyler PD, Burke RC, Han X, Zhang F, McMurtry SA, Colbert JF, Lindsell CJ, Angus DC, Kellum JA, Yealy DM, Linhardt RJ, Shapiro NI, Schmidt EP: Intravenous fluid resuscitation is associated with septic endothelial glycocalyx degradation. *Crit Care* **23**: 259, 2019.
- Suzuki K, Okada H, Takemura G, Takada C, Kuroda A, Yano H, Zaikokuji R, Morishita K, Tomita H, Oda K, Matsuo S, Uchida A, Fukuta T, Sampei S, Miyazaki N, Kawaguchi T, Watanabe T, Yoshida T, Ushikoshi H, Yoshida S, Maekawa Y, Ogura S: Neutrophil elastase damages the pulmonary endothelial glycocalyx in lipopolysaccharide-induced experimental endotoxemia. *Am J Pathol* **189**: 1526-1535, 2019.
- Sieve I, Münster-Kühnel AK, Hilfiker-Kleiner D: Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases. *Vascul Pharmacol* **100**: 26-33, 2018.
- Reine TM, Lanzalaco F, Kristiansen O, Enget AR, Satchell S, Jenssen TG, Kolset SO: Matrix metalloproteinase-9 mediated shedding of syndecan-4 in glomerular endothelial cells. *Microcirculation* e12534, doi: 10.1111/micc.12534, 2019.
- Bongoni AK, Lu B, McRae JL, Salvaris EJ, Toonen EJM, Vikstrom I, Baz Morelli A, Pearse MJ, Cowan PJ: Complement-mediated damage to the glycocalyx plays a role in renal ischemia-reperfusion injury in mice. *Transplant Direct* **5**: e341, 2019.
- Milford EM, Reade MC: Resuscitation fluid choices to preserve the endothelial glycocalyx. *Crit Care* **23**: 77, 2019.
- Gonzalez Rodriguez E, Ostrowski SR, Cardenas JC, Baer LA, Tomasek JS, Henriksen HH, Stensballe J, Cotton BA, Holcomb JB, Johansson PI, Wade CE: Syndecan-1: A quantitative marker for the endotheliopathy of trauma. *J Am Coll Surg* **225**: 419-427, 2017.
- Ostrowski SR, Haase N, Müller RB, Möller MH, Pott FC, Perner A, Johansson PI: Association between biomarkers of endothelial injury and hypocoagulability in patients with severe sepsis: a prospective study. *Crit Care* **19**: 191, 2015.
- Bogner-Flatz V, Braunstein M, Ocker LE, Kusmenkov T, Tschöep J, Ney L, Böcker W, Annecke T: On-the-scene hyaluronan and syndecan-1 serum concentrations and outcome after cardiac arrest and resuscitation. *Mediators Inflamm* doi: 10.1155/2019/80701619, 2019.
- Rovas A, Seidel LM, Vink H, Pohlkötter T, Pavenstädt H, Ertmer C, Hessler M, Kümpers P: Association of sublingual microcirculation parameters and endothelial glycocalyx dimensions in resuscitated sepsis. *Crit Care* **23**: 260, 2019.
- Valerio L, Peters RJ, Zwiderman AH, Pinto-Sietsma SJ: Sublingual endothelial glycocalyx and atherosclerosis. A cross-sectional study. *PLoS ONE* **14**: e0213097, 2019.
- De Backer D: Is microcirculatory assessment ready for regular use in clinical practice? *Curr Opin Crit Care* **25**: 280-284, 2019.
- Mensah SA, Cheng MJ, Homayoni H, Plouffe BD, Coury AJ, Ebong EE: Regeneration of glycocalyx by heparan sulfate and sphingosine 1-phosphate restores inter-endothelial communication. *PLoS ONE* **12**: e0186116, 2017.
- Oshima K, Haeger SM, Hippensteel JA, Herson PS, Schmidt EP: More than a biomarker: the systemic consequences of heparan sulfate fragments released during endothelial surface layer degradation (2017 Grover Conference Series). *Pulm Circ* **8**: doi: 10.1177/2045893217745786, 2018.
- Zhang Y, Haeger SM, Yang Y, Dailey KL, Ford JA, Schmidt EP: Circulating heparan sulfate fragments attenuate histone-

- induced lung injury independently of histone binding. *shock* **48**: 666–673, 2017.
- 25) Bar A, Targosz-Korecka M, Suraj J, Proniewski B, Jasztal A, Marczyk B, Sternak M, Przybyło M, Kurpińska A, Walczak M, Kostogrys RB, Szymonski M, Chlopicki S: Degradation of glycocalyx and multiple manifestations of endothelial dysfunction coincide in the early phase of endothelial dysfunction before atherosclerotic plaque development in apolipoprotein E/low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *J Am Heart Assoc* **8**: e011171, 2019.
 - 26) Ndisang JF: Glomerular endothelium and its impact on glomerular filtration barrier in diabetes: Are the gaps still illusive? *Curr Med Chem* **25**: 1525–1529, 2018.
 - 27) Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI: The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. *Crit Care* **23**: 16, 2019.
 - 28) Song JW, Zullo J, Lipphardt M, Dragovich M, Zhang FX, Fu B, Goligorsky MS: Endothelial glycocalyx-the battleground for complications of sepsis and kidney injury. *Nephrol Dial Transplant* **33**: 203–211, 2018.
 - 29) Ikeda M, Matsumoto H, Ogura H, Hirose T, Shimizu K, Yamamoto K, Maruyama I, Shimazu T: Circulating syndecan-1 predicts the development of disseminated intravascular coagulation in patients with sepsis. *J Crit Care* **43**: 48–53, 2018.
 - 30) Yeo TW, Weinberg JB, Lampah DA, Kenangalem E, Bush P, Chen Y, Price RN, Young S, Zhang HY, Millington D, Granger DL, Anstey NM: Glycocalyx breakdown is associated with severe disease and fatal outcome in plasmodium falciparum Malaria. *Clin Infect Dis* doi: 10.1093/cid/ciz038, 2019.
 - 31) Wiles K, Bramham K, Seed PT, Kurlak LO, Mistry HD, Nelson-Piercy C, Lightstone L, Chappell LC: Diagnostic indicators of superimposed preeclampsia in women with CKD. *Kidney Int Rep* **4**: 842–853, 2019.
 - 32) Weissgerber TL, Garcia-Valencia O, Milic NM, Codsí E, Cubro H, Nath MC, White WM, Nath KA, Garovic VD: Early onset preeclampsia is associated with glycocalyx degradation and reduced microvascular Perfusion. *J Am Heart Assoc* **8**: e010647, 2019.
 - 33) van den Berg BM, Wang G, Boels MGS, Avramut MC, Jansen E, Sol WMPJ, Lebrin F, Jan van Zonneveld A, de Koning EJP, Vink H, Gröne HJ, Carmeliet P, van der Vlag J, Rabelink TJ: Glomerular function and structural integrity depend on hyaluronan synthesis by glomerular endothelium. *J Am Soc Nephrol* pii: ASN.2019020192, 2019.
 - 34) Henriksen HH, McGarrity S, Sigurðardóttir RS, Nemkov T, D'Alessandro A, Palsson BO, Stensballe J, Wade CE, Rolfsson Ó, Johansson PI: Metabolic systems analysis of shock-induced endotheliopathy (SHINE) in trauma: A new research paradigm. *Ann Surg* doi: 10.1097/SLA.0000000000003307, 2019.
 - 35) Albert V, Subramanian A, Agrawal D, Pati HP, Gupta SD, Mukhopadhyay AK: Acute traumatic endotheliopathy in isolated severe brain injury and its impact on clinical outcome. *Med Sci* **6**: pii: E5, 2018.
 - 36) Gonzalez Rodriguez E, Cardenas JC, Cox CS, Kitagawa RS, Stensballe J, Holcomb JB, Johansson PI, Wade CE: Traumatic brain injury is associated with increased syndecan-1 shedding in severely injured patients. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* **26**: 102, 2018.
 - 37) Gando S, Hayakawa M: Pathophysiology of trauma-induced coagulopathy and management of critical bleeding requiring massive transfusion. *Semin Thromb Hemost* **42**: 155–165, 2016.
 - 38) Guerci P, Ergin B, Uz Z, Ince Y, Westphal M, Heger M, Ince C: Glycocalyx degradation is independent of vascular barrier permeability increase in nontraumatic hemorrhagic shock in rats. *Anesth Analg* **129**: 598–607, 2019.
 - 39) Triantafyllidi H, Benas D, Vlachos S, Vlastos D, Pavlidis G, Schoinas A, Varoudi M, Birmpa D, Moutsatsou P, Lekakis J, Ikonomidis I: HDL cholesterol levels and endothelial glycocalyx integrity in treated hypertensive patients. *J Clin Hypertens* **20**: 1615–1623, 2018.
 - 40) Dogné S, Flamion B, Caron N: Endothelial glycocalyx as a shield against diabetic vascular complications: Involvement of hyaluronan and hyaluronidases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **38**: 1427–1439, 2018.
 - 41) Targosz-Korecka M, Jaglarz M, Malek-Zietek KE, Gregorius A, Zakrzewska A, Sitek B, Rajfur Z, Chlopicki S, Szymonski M: AFM-based detection of glycocalyx degradation and endothelial stiffening in the db/db mouse model of diabetes. *Sci Rep* **7**: 15951, 2017.
 - 42) Mitra R, Qiao J, Madhavan S, O'Neil GL, Ritchie B, Kulkarni P, Sridhar S, van de Ven AL, Kemmerling EMC, Ferris C, Hamilton JA, Ebong EE: The comparative effects of high fat diet or disturbed blood flow on glycocalyx integrity and vascular inflammation. *Transl Med Commun* **3**: 2018.
 - 43) Margraf A, Herter JM, Kühne K, Stadtmann A, Ermert T, Wenk M, Meersch M, Van Aken H, Zarbock A, Rossaint J: 6% Hydroxyethyl starch (HES 130/0.4) diminishes glycocalyx degradation and decreases vascular permeability during systemic and pulmonary inflammation in mice. *Crit Care* **22**: 111, 2018.
 - 44) Lipowsky HH, Lescanic A: Inhibition of inflammation induced shedding of the endothelial glycocalyx with low molecular weight heparin. *Microvasc Res* **112**: 72–78, 2017.
 - 45) Li X, Ma X: The role of heparin in sepsis: much more than just an anticoagulant. *Br J Haematol* **179**: 389–398, 2017.
 - 46) Barelli S, Alberio L: The role of plasma transfusion in massive bleeding: Protecting the endothelial glycocalyx? *Front Med* **5**: 91, 2018.
 - 47) Iba T, Levy JH, Hirota T, Hiki M, Sato K, Murakami T, Nagao I: Protection of the endothelial glycocalyx by antithrombin in an endotoxin-induced rat model of sepsis. *Thromb Res* **171**: 1–6, 2018.