

<p>e-ISSN: 2345-0592 Online issue Indexed in <i>Index Copernicus</i></p>	<p>Medical Sciences</p> <p>Official website: www.medicisciences.com</p>	
---	--	---

Injury to the glycocalyx during critical conditions

Eglė Belousovienė¹, Simona Bielskutė², Andrius Pranskūnas¹

¹ *Lithuanian University of Health Sciences, Department of Intensive Care, Kaunas, Lithuania*

² *Lithuanian University of Health Sciences, Academy of Medicine, Faculty of Medicine, Kaunas, Lithuania*

Abstract

The glycocalyx layer is a vital structure that covers the vascular endothelium. Under physiological conditions, it regulates capillary permeability and tone, inhibits leukocyte adhesion, prevents microvascular thrombosis. An ever-increasing number of studies suggest that glycocalyx preservation leads to better outcomes of the disease. This article aims to review the recent literature describing the importance of the glycocalyx layer and main treatment methods to preserve it. The data was collected in PubMed, Google Scholar, UpToDate databases. Keywords used for data search: glycocalyx, glycocalyx injury, glycocalyx protection. 32 English full-text articles were selected and analyzed. The results showed that various critical conditions could damage the glycocalyx layer. Timely therapeutic interventions aimed to maintain and restore previously damaged glycocalyx might improve critically ill patients' survival rate.

Key words: glycocalyx, glycocalyx injury, glycocalyx protection.

Glikokalikso pažeidimai kritinių būklių metu

Eglė Belousovienė¹, Simona Bielskutė², Andrius Pranskūnas¹

¹ Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Intensyviosios terapijos klinika, Kaunas, Lietuva

² Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos akademija, Kaunas, Lietuva

Santrauka

Glikokalikso sluoksnis yra labai svarbi struktūra, dengianti kraujagyslių endotelį. Fiziologinėmis sąlygomis jis reguliuoja kapiliarų pralaidumą bei tonusą, slopina leukocitų adheziją, užkertą kelią mikrokraujagyslių trombozei. Atsiranda vis daugiau tyrimų, kurių rezultatai rodo, jog glikokalikso išsaugojimas lemia geresnę ligos baigtį. Šio straipsnio tikslas – apžvelgti naujausią literatūrą, kurioje aprašoma glikokalikso sluoksnio svarba bei pagrindiniai gydymo metodai, padedantys jį išsaugoti. Duomenys buvo renkami PubMed, GoogleScholar, UpToDate duomenų bazėse. Naudojami raktiniai žodžiai: glikokaliksas, glikokalikso pažeidimai, glikokalikso išsaugojimas. Atrinkta ir išanalizuota 32 viso teksto straipsnių anglų kalba. Rezultatai parodė, jog glikokalikso sluoksnis gali būti pažeistas dėl įvairių kritinių būklių. Nustatyta, jog savalaikės terapinės intervencijos, padedančios išsaugoti ar atkurti jau pažeistą glikokalikso sluoksnį, gali padidinti pacientų išgyvenamumą kritinių būklių metu.

Raktažodžiai: glikokaliksas, glikokalikso pažeidimai, glikokalikso išsaugojimas.

Įvadas

Glikokaliksas – tai polisacharidų tinklas, padengiantis visą sveiką kraujagyslių sienelių endotelį (1). Pirmą kartą 1940 m. apie šio sluoksnio egzistavimą užsiminė biologas J.Danielli (2), tačiau vizualizuoti jį pavyko tik 1966 m., atsiradus elektroninei mikroskopijai (3). Rutenio raudonuoju nudažytuose žiurkės žarnyno preparatuose rastas glikokaliksas buvo apibūdintas kaip netaisyklingas, purus sluoksnis, kurio „danteliai“ nesisėia į kraujagyslės spindį (4). Prireikė trisdešimties metų, kol buvo aptikti pirmieji patologiniai glikokalikso sluoksnio pokyčiai į aterosklerozę linkusiose arterijose. Lewisas ir kt., stebėdami balandžių vainikines arterijas nustatė,

jog glikokalikso sluoksnis buvo plonesnis kraujagyslėse, linkusiose į aterosklerozę. Negana to, maitinant balandžius maistu, kuriame gausu cholesterolio, jis suplonėjo visose arterijose. Hipotezę apie sąsają tarp glikokalikso storio bei ligos tyrimais su pelėmis patvirtino ir Van Den Berg bei kolegos. Jie pastebėjo, jog glikokaliksas pelės vidinės miego arterijos sinusiniame regione, kuriame dažniausiai aptinkami pažeidimai, yra žymiai plonesnis nei šalia esančioje bendrojoje miego arterijoje (5). Šis atrastas ryšys tarp glikokalikso sluoksnio storio ir galimo organų pažeidimo sukėlė didelį mokslininkų susidomėjimą. Per pastaruosius du dešimtmečius

buvo atlikta daugybė eksperimentinių ir klinikinių tyrimų, kurie patvirtina svarbų glikokalikso vaidmenį. Šiuolaikiniai tyrimo metodai nepažeidžia glikokalikso sluoksniu, todėl leidžia įvertinti ne tik struktūrą, atliekamas funkcijas, bet ir terapinių priemonių poveikį, išsaugant bei atstatant glikokalikso vientisumą (6). Jo struktūros apsaugojimas ir funkcijos atstatymas gali būti viena iš pagrindinių sąlygų, norint išvengti organų pažeidimo ar atstatyti jau sutrikusią organų veiklą (7).

Darbo tikslas – apžvelgti ir išanalizuoti naujausią literatūrą, kurioje aprašomas glikokaliksas, jo pagrindinės funkcijos, pažeidimai kritinių būklių metu bei pagrindinės terapinės intervencijos, padedančios išsaugoti glikokaliksą.

Tyrimo objektas ir metodika

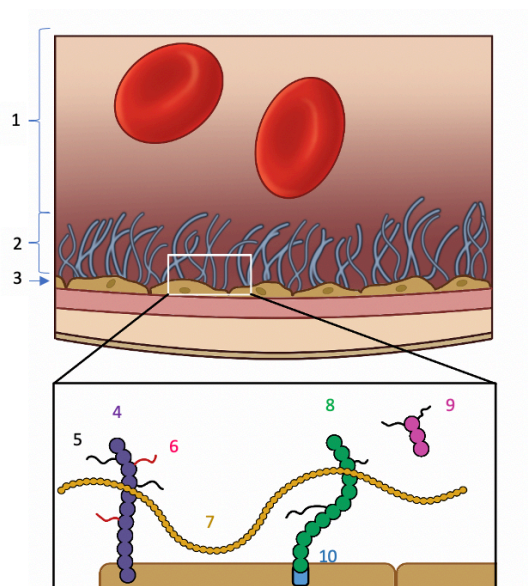
Atlikta sisteminė mokslinės literatūros apžvalga bei analizė. Literatūros šaltinių buvo ieškoma PubMed, GoogleScholar, UpToDate duomenų bazėse. Visateksčiai straipsniai atrinkti, jei jų pavadinimas, santrauka ar raktiniai žodžiai atitiko nagrinėjamą temą. Pasirinktos anglų kalba

skelbiamas publikacijos. Iš viso atrinkta ir išanalizuota 32 publikacijų.

Rezultatai

Endotelio glikokalikso struktūra ir funkcijos

Glikokaliksą, kuris fiziologinėmis sąlygomis yra 0,5-5 μ m storio, sudaro du sluoksniai: tankus vidinis ir retesnis – išorinis (pav.). Struktūrinį pamatą formuoja proteoglikanai. Svarbiausi iš jų yra sindekanai-1, 2, 4 ir gliplikanas-1. Proteoglikanų baltymai kovalentinėmis jungtimis prisijungia glikozaminoglikanus chondroitino sulfatą ir heparano sulfatą. Chondroitino sulfatas kartu su kitu svarbiu glikozaminoglikanu hialurono rūgštimi koncentruojasi vidiniame glikokalikso sluoksnyje ir suformuoja selektyvų barjerą plazmos makromolekulėms (8). Hialurono rūgštis ypatinga tuo, kad sudarydama 50-90% visų glikozaminoglikanų, gali susijungti į kompleksus su kitais glikozaminoglikanais. Tokiu būdu sulaikomas vanduo ir stabilizuojama gelinė glikokalikso struktūra (8,9).



Pav. Endotelio glikokalikso sudėtis.
 1 - eritrocitų srovė, 2 - glikokaliksas, 3 - endotelio ląstelės, 4 - sindekansas, 5 - heparano sulfatas, 6 - chondroitino sulfatas, 7 - hialurono rūgštis, 8 - glikopikanas, 9 - perlekanas, 10 - glikozilfosfatidilinozitolio jungtis.

Išorinį glikokalikso sluoksnį sudaro plazmos baltymai (tokie kaip albuminas ir antitrombinas) kartu su heparano sulfatu, kurį į paviršių iškelia proteoglikanai. Pagrindinė išorinio sluoksnio paskirtis – užkirsti kelią netikėtam kraujų ląstelių prisijungimui prie endotelio ląstelių (8).

Fiziologinėmis sąlygomis endotelio glikokaliksas sukuria palankią mikroapliną svarbiems kraujagysliniams procesams – palaiko kraujagyslių homeostazę, reguliuodamas kraujagyslių pralaidumą, tonusą, slopindamas trombozę bei neleidamas leukocitams prikibti prie endotelio (10). Patologinių būklių, tokių kaip sepsis, sunki trauma, išemija ir reperfuzija, hiperglikemija, hipervolemija, metu, glikokaliksas pažeidžiamas. Dėl šio pažeidimo padidėjęs pralaidumas, intersticinės edemos progresavimas, sutrikusi

azoto oksido (NO) sintezė, koagulopatija, oksidacinis stresas bei imuninio atsako defektai blogina mikrocirkuliaciją (11).

Daugėjant žinių apie glikokaliksą bei remiantis jo svarba organizme vykstantiems procesams buvo netgi pasiūlyta pakoreguoti klasikinį Starlingo skysčių judėjimo per kapiliarų sienelę dėsnį. Pagal naująjį modelį, intravaskulinį tūrį sudaro ne tik kraujų plazma bei kraujų ląstelės, tačiau ir glikokaliksas, kurio žmogaus organizme yra 0,7 – 1,7 litro, o paviršiaus plotas sudaro net 350 m² (4,12,13). Glikokaliksas yra pusiau pralaidus neigiamam krūvio baltymams ir jų koncentracija tarpląstelinuose plyšiuose žemiau glikokalikso yra labai nedidelė, todėl spėjama, kad Starlingo jėgos, kitaip, negu teigia klasikinis Starlingo dėsnis, yra transendotelinių slėgių skirtumas bei plazmos-subglikokalikso

koloidoosmosinių slėgių skirtumai. Pagal pasiūlytą naują koncepciją, intersticiumo koloidoosmosinis slėgis neturi tiesioginės įtakos transkapiliarinei tėkmei, o skysčiai į kraujotaką didžiąja dalimi grįžta limfotakos keliu. Padidinus plazmos koloidoosmosinį slėgį transkapiliarinė tėkmė sulėtėja, tačiau absorbcija nevyksta. Tai paaiškintų, kodėl klinikinėje praktikoje lašinant į veną tirpalus, didinančius plazmos koloidoosmosinį slėgį, nemažėja audinių edemos. Visgi reiktų paminėti, kad šie mechanizmai nebuvo įrodyti klinikinuose tyrimuose su žmonėmis (13).

Glikokalikso sluoksnio pažeidimo nustatymo metodai

Glikokalikso vizualizavimas buvo apsunkintas iki pat 1966 m., nes tyrimui naudojamos medžiagos sunaikindavo šią trapią struktūrą (3). Praėjus maždaug 30 metų nuo pirmojo glikokalikso sluoksnio atvaizdavimo elektroninės mikroskopijos pagalba, Vink ir kt. sugalvojo panaudoti intravitalinę mikroskopiją, vizualizuojant žiurkėnų raumenų kapiliarų endotelio glikokaliksą. Šis metodas leido glikokaliksą įvertinti *in vivo* ir apibūdinti jį kaip tarpą tarp eritrocitų ir endotelio arba tiesiog erdvę be eritrocitų. Intravitalinės mikroskopijos metu buvo naudojami arba fluorescenciniai dažai arba biožymenys, tokie kaip per glikokalikso sluoksnį difunduojantis dekstrasas 40 arba nedifunduojantys žymėti eritrocitai. Šis metodas buvo naudojamas daugelyje to meto tyrimų, tiriant žiurkėnų ar pelių raumenų mikrocirkuliaciją, tačiau sudėtinga ir invazyvi metodika riboja jos pritaikymą klinikinėje praktikoje (14).

Šiuolaikinės technologijos panaudojant neinvazinę tamsaus lauko šoninio srauto videomikroskopiją (angl. *Side Stream Dark Field - SDF videomicroscopy*) leidžia lengvai ir greitai įvertinti glikokaliksą prie ligozės lovos. Metodika pasižymi tuo, kad eritrocitai absorbuoja mikroskopo sklaidžiamą žalią šviesą ir yra matomi ekrane kaip juodi taškai. Programinė įranga „Glycocheck“, su kuria susietas mikroskopas automatiškai išmatuoja raudonųjų kraujo kūnelių prasiskverbimo gylį link endotelio (angl. *Perfused Boundary Region-PBR*) (4). Fiziologinėmis sąlygomis raudonieji kraujo kūneliai į glikokaliksą neprasiskverbia, tačiau jam yrant pralaidi zona didėja, o prasiskverbimo gylis turi ryšį su pažaidos sunkumu (15).

Glikokalikso pažeidimai nustatyti egzistuoja ir netiesioginiai metodai – matuojama glikokalikso irimo produktų koncentracija kraujo serume. Dažniausiai naudojami žymenys: sindekanas-1, heparino sulfatas bei hialurono rūgštis. Šių komponentų pokytis leidžia kiekybiškai įvertinti glikokalikso pažaidos laipsnį (16).

Kas gali pažeisti glikokalikso sluoksnį?

Sepsis. Nesant infekcijos organizme, leukocitų ir endotelio sąveika yra ribota. Selektinai ir integrinai, kurie gali sukelti adheziją, yra blokuojami arba paslėpti glikokalikse. Sepsio metu kraujagyslių endotelio sluoksnis pirmasis sureaguoja į atsiradusį uždegimą. Išsiskyrę uždegimo mediatoriai ir bakterijų lipopolisacharidai pradeda ardyti glikokalikso sluoksnį (4,7). Jam suplonėjus ir

praretėjus, plazmos baltymai (pvz. albuminas) ir skystis gali judėti per kraujagyslės sienelę, atsiranda audinių edema (10). Svarbu paminėti, jog asmenims sergantiems sepsiu, nustatoma reikšmingai padidėjusi glikokalikso irimo žymenų (sindekano-1 ir heparino sulfato) koncentracija kraujo serume. Šis padidėjimas turi ryšį su mirštamumu (17,18).

Hipervolemija. Mechaninis prieširdžių įtempimas hipervolemijos metu skatina prieširdžių natriuretino peptido išsiskyrimą, o jis galimai lemia glikokalikso irimą. Glikokaliksą ardantis poveikis buvo pastebėtas ikiklinikinių tyrimų su gyvūnais metu. Koreliacija tarp prieširdžių natriuretino peptido koncentracijos bei glikokalikso irimo produktų koncentracijų rasta ir klinikinėje studijoje kardiologinių operacijų metu, tačiau mechanizmas ir priežastinis ryšys tarp natriuretino peptido bei glikokalikso degradacijos išlieka nepilnai aiškus (10).

Nukraujavimas, išemija ir reperfuzija. Staigūs kraujotakos pokyčiai gali pažeisti glikokaliksą. Torresas ir kt. nustatė, kad hemoraginis šokas (> 30% kraujo netekimas) sumažino endotelio glikokalikso storį griaučių raumenų venulose 59% (19,20). Atliktos kitos studijos patvirtina, jog traumas ar išemijos ir reperfuzijos metu pažeidžiamas glikokalikso sluoksniu, didėja kraujagyslių pralaidumas (21).

Hiperglikemija. Ūminė hiperglikemija padidina glikokalikso irimą ir sutrikdo normalų kraujagyslių barjerą. Buvo įrodyta, jog 10 sveikų savanorių, sukėlus ūminę hiperglikemiją, sumažėjo glikokalikso tūris ir pagreitėjo kraujo krešėjimas. Manoma, jog tai

sukėlė deguonies radikalai, dėl kurių sutrinka normali kraujagyslių funkcija hiperglikemijos metu. (9). Nustatyta, jog 1 tipo cukriniu diabetu sergančių žmonių glikokalikso sluoksniu perpus plonesnis, nei sveikų žmonių. Jis plonesnis taip pat ir asmenims, kuriems nustatyta mikroalbuminurija (11).

COVID-19 infekcija – nustatyta, jog COVID-19 rizikos veiksniai bei galimos šios infekcijos komplikacijos yra susijusios su glikokalikso patofiziologija (22). Minako Yamaoka-Tojo išnagrinėjo 16 atliktų naujausių studijų, kurios parodė, jog pacientų, sergančių sunkia COVID-19 infekcija, kraujyje padaugėjo glikokalikso irimo produktų. Atlikta nedaug tyrimų su COVID-19 infekcija sergančiais pacientais, tačiau glikokalikso sluoksnio pažeidimas gali būti labai perspektyvus prognostinis ligos sunkumo žymuo ir gydymo efektyvumo rodiklis (23).

Glikokalikso sluoksnio pažeidimo gydymo tendencijos

Kraujo plazma. Atlikti ikiklinikiniai tyrimai, naudojant žiurkių ir kiaulių hemoraginio šoko modelius, parodė, jog gydymo metu naudojama kraujo plazma veikia priešūždegimiškai, sumažina kraujagyslių pralaidumą, stabilizuoja endotelio glikokaliksą geriau, nei koloidai, kristaloidai ar albumino tirpalai (24,25). Teigiamas plazmos poveikis glikokaliksui buvo pastebėtas ir tyrimuose su žmonėmis, vertinant glikokalikso irimo produktų koncentracijos pokyčius hemoraginio šoko metu. Nustatyta jog sindekano-1 koncentracijos

mažėjimas koreliuoja su paskirtu kraujo plazmos kiekiu (6,26).

Antikoagulantai. Antitrombinas yra natūralus endotelio glikokalikso sluoksnio komponentas. Fiziologinėmis sąlygomis antitrombinas prisijungia prie glikokalikso heparano sulfato šoninių grandinių. Tokiu būdu sutvirtina glikokalikso sluoksnį bei užtikrina kraujagyslių homeostazę, reguliuojant kraujo krešėjimą (27). Sepsio metu antitrombino kiekis mažėja, todėl didėja trombozių rizika. Iba ir kt. atliktame tyrime parodė, kad papildomas antitrombino vartojimas pagerino audinių mikrocirkuliaciją ir sumažino organų pažeidimus (28). Kitame Wistar atliktame tyrime su žiurkėmis išankstinis gydymas antitrombinu sumažino sindekano-1 kiekį. Yra duomenų, jog nefrakcionuotas heparinas apsaugo nuo sepsio sukeltos glikokalikso pažaidos (7).

Infuzoterapija. Skysčių terapija gali būti naudinga, kai taikoma ankstyvuju periodu, atsiradus pirmiems sepsio požymiams, tačiau vėlesniuose etapuose, koreguojant sepsio sukeltus mikrocirkuliacijos pokyčius, gali būti neveiksminga ir netgi turėti žalingą poveikį endoteliui (29). Įrodyta, kad dėl pakitusio glikokalikso vientisumo skysčiai lengviau patenka į intersticiumą ir sukelia audinių edemą. Svarbu skysčius naudoti racionaliai, įvertinant, ar yra jų trūkumas, palaikyti normovolemiją ir išvengti perteklinės infuzoterapijos (30).

Albuminas. Atlikti tyrimai su gyvūnais parodė, kad albuminas veiksmingiau nei koloidai ar kristaloidai atkuria pažeistą glikokalikso sluoksnį, mažina kraujagyslių

pralaidumą bei trombocitų ir leukocitų sukibimą, ypač, kai yra hipoalbuminemija. Net labai maža albumino koncentracija gali palaikyti endotelio barjerinę funkciją (31).

Glikemijos kontrolė. Tiek ūmi, tiek lėtinė hiperglikemija gali sukelti glikokalikso pažeidimą. Mechanizmas kol kas nėra visiškai aiškus, tačiau akivaizdu, kad glikemijos kontrolė yra ne tik metabolinis poreikis, bet ir būdas apsaugoti glikokaliksą (32). Yra duomenų, kad glikemijos kontrolei vartojamas metforminas greta prieš diabetinio poveikio gali turėti ir glikokaliksą tausojantį efektą, tačiau tyrimų su žmonėmis trūksta (7).

Gliukokortikoidai.

Gliukokortikoidai pasižymi stipriu imunomoduliuojančiu poveikiu. Slopindami citokinų gamybą, užkirsdami kelią uždegiminių ląstelių migracijai bei putliųjų ląstelių degeneracijai jie gali sušvelninti uždegimą ir, atskirais atvejais, užkirsti kelią glikokalikso pažaidai (4,11).

Išvados

Glikokaliksas yra svarbus, palaikant kraujagyslių homeostazę kritinių būklių metu. Vykdamas terapines intervencijas, reikėtų atsižvelgti į jų poveikį glikokaliksui. Antikoagulantai, kraujo plazma, racionali infuzoterapija, albuminas, glikemijos kontrolė, gliukokortikoidai gali turėti teigiamą poveikį glikokalikso sluoksnio išsaugojimui. Nors sukauptos žinios aiškiai atspindi glikokalikso svarbą kritinių būklių metu, tačiau reikalingi

išsamesni klinikiniai tyrimai, kurie padėtų atrasti efektyvius glikokalikso pažaidos gydymo būdus.

Literatūra

1. Rovas A, Seidel LM, Vink H, Pohlkötter T, Pavenstädt H, Ertmer C, et al. Association of sublingual microcirculation parameters and endothelial glycocalyx dimensions in resuscitated sepsis. *Critical care (London, England)*. 2019;23(1):260.
2. Danielli JF. Biochemical Laboratory,. *The Journal of Physiology*. 1939;98.
3. Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P. The endothelial surface layer. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*. 2000;440(5):653–66.
4. Pillinger NL, Kam PCA. Endothelial glycocalyx: Basic science and clinical implications. *Anaesthesia and Intensive Care*. 2017;45(3):295–307.
5. Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annual Review of Biomedical Engineering*. 2007;9:121–67.
6. Schött U, Solomon C, Fries D, Bentzer P. The endothelial glycocalyx and its disruption, protection and regeneration: A narrative review. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine [Internet]*. 2016;24(1):1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13049-016-0239-y>
7. D. Astapenko, J. Benes and VC. Clinical Relevance of the Endothelial Glycocalyx in Critically Ill Patients. *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2020 [Internet]*. 2020;213–22. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-030-37323-8_17
8. Dogné S, Flamion B. Endothelial Glycocalyx Impairment in Disease: Focus on Hyaluronan Shedding. *American Journal of Pathology [Internet]*. 2020;190(4):768–80. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2019.11.016>
9. Cao RN, Tang L, Xia ZY, Xia R. Endothelial glycocalyx as a potential therapeutic target in organ injuries. *Chinese Medical Journal*. 2019;132(8):963–75.
10. Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI. The glycocalyx: A novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. *Critical Care*. 2019;23(1):1–12.
11. Alphonsus CS, Rodseth RN. The endothelial glycocalyx: A review of the vascular barrier. *Anaesthesia*. 2014;69(7):777–84.
12. Hahn RG. Water content of the endothelial glycocalyx layer estimated by volume kinetic analysis. *Intensive Care Medicine Experimental*. 2020;8(1).
13. Woodcock TE, Woodcock TM. Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: An improved paradigm for prescribing intravenous fluid therapy. *British Journal*

- of Anaesthesia [Internet]. 2012;108(3):384–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/bja/aer515>
14. Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, Van Zandvoort MAMJ, Oude Egbrink MGA. The endothelial glycocalyx: Composition, functions, and visualization. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*. 2007;454(3):345–59.
 15. Vink H, Duling BR. Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leukocytes within mammalian capillaries. *Circulation research*. 1996 Sep;79(3):581–9.
 16. Tuma M, Canestrini S, Alwahab Z, Marshall J. Trauma and endothelial glycocalyx: The microcirculation helmet? *Shock*. 2016;46(4):352–7.
 17. Tarbell JM, Cancel LM. The glycocalyx and its significance in human medicine. *Journal of Internal Medicine*. 2016;280(1):97–113.
 18. Ostrowski SR, Gañi S, Pedersen C, Johansson PI. Sympathoadrenal activation and endothelial damage in patients with varying degrees of acute infectious disease: An observational study. *Journal of Critical Care*. 2015;30(1):90–6.
 19. Torres LN, Chung KK, Salgado CL, Dubick MA, Torres Filho IP. Low-volume resuscitation with normal saline is associated with microvascular endothelial dysfunction after hemorrhage in rats, compared to colloids and balanced crystalloids. *Critical Care*. 2017;21(1):1–10.
 20. Torres Filho I, Torres LN, Sondeen JL, Polykratis IA, Dubick MA. In vivo evaluation of venular glycocalyx during hemorrhagic shock in rats using intravital microscopy. *Microvascular Research*. 2013;85(1):128–33.
 21. Zhao H, Zhu Y, Zhang J, Wu Y, Xiang X, Zhang Z, et al. The Beneficial Effect of HES on Vascular Permeability and Its Relationship With Endothelial Glycocalyx and Intercellular Junction After Hemorrhagic Shock. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11(May):1–19.
 22. Häfner SJ. Don't sugar coat the COVID (only the vasculature). *Biomedical Journal*. 2020;43(5):393–8.
 23. Yamaoka-Tojo M. Vascular endothelial glycocalyx damage in COVID-19. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(24):1–22.
 24. Watson JJJ, Pati S, Schreiber MA. Plasma transfusion: History, current realities, and novel improvements. *Shock*. 2016;46(5):468–79.
 25. Myers GJ, Wegner J. Endothelial glycocalyx and cardiopulmonary bypass. *Journal of Extra-Corporeal Technology*. 2017;49(3):174–81.
 26. Haywood-Watson RJ, Holcomb JB, Gonzalez EA, Peng Z, Pati S, Park PW, et al. Modulation of syndecan-1 shedding after hemorrhagic shock and resuscitation. *PLoS ONE*. 2011;6(8).

27. Iba T, Levy J, Raj A, Warkentin T. Advance in the Management of Sepsis-Induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *Journal of Clinical Medicine*. 2019;8(5):728.
28. Iba T, Levy JH, Hirota T, Hiki M, Sato K, Murakami T, et al. Protection of the endothelial glycocalyx by antithrombin in an endotoxin-induced rat model of sepsis. *Thrombosis Research*. 2018;171(September):1–6.
29. Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, Gomez H, Kellum JA, Ospina-Tascón GA, et al. The endothelium in sepsis. *Shock*. 2016;45(3):259–70.
30. Chappell D, Bruegger D, Potzel J, Jacob M, Brettner F, Vogeser M, et al. Hypervolemia increases release of atrial natriuretic peptide and shedding of the endothelial glycocalyx. *Critical Care*. 2014;18(5):1–8.
31. Martin L, Koczera P, Zechendorf E, Schuerholz T. The Endothelial Glycocalyx: New Diagnostic and Therapeutic Approaches in Sepsis. *BioMed Research International*. 2016;2016.
32. Astapenko D, Benes J, Pouska J, Lehmann C, Islam S, Cerny V. Endothelial glycocalyx in acute care surgery - What anaesthesiologists need to know for clinical practice. *BMC Anesthesiology*. 2019;19(1):1–13.