



Prikaz slučaja | Case report

Endotelna disfunkcija u sepsi

Endothelial dysfunction in sepsis

Božena Ćurko-Cofek¹, Tanja Batinac², Gordana Laškarin^{1,3}, Marijana Rakić³, Danijel Knežević⁴, Alan Šustić^{4,5}, Vlatka Sotošek^{4,5} , Lara Batičić⁶

¹Katedra za fiziologiju, imunologiju i patofiziologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

²Katedra za kliničke medicinske znanosti I, Fakultet zdravstvenih studija, Rijeka, Hrvatska

³Bolnica za medicinsku rehabilitaciju srca i pluća i reumatizam "Thalassotherapia-Opatija", Opatija, Hrvatska

⁴Katedra za anesteziologiju, reanimatologiju, hitnu i intenzivnu medicinu, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

⁵Katedra za kliničke medicinske znanosti II, Fakultet zdravstvenih studija, Rijeka, Hrvatska

⁶Zavod za medicinsku kemiju, biokemiju i kliničku kemiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Deskriptori

ENDOTEL; ENDOTELNA DISFUNKCIJA;
ENDOTELNI GLIKOKALIKS; SEPSA

Descriptors

ENDOTHEL; ENDOTHELIAL DYSFUNCTION;
ENDOTHELIAL GLYCOCALYX; SEPSIS

SAŽETAK. U fiziološkim uvjetima, endotel predstavlja dinamičku strukturu važnu u održavanju tonusa krvnih žila, regulaciji protoka krvi uz stijenke krvnih žila, vaskularne propusnosti, puteva zgrušavanja i adhezije leukocita. U sepsi, djelovanjem patogena i njihovih topljivih čimbenika dolazi do aktivacije endotela, oštećenja endotelnog glikokaliksa (EG) te pokretanja brojnih mehanizama koji imaju ključnu ulogu u razvoju i progresiji sepse. Nadalje, disfunkcija endotela i oštećenje EG ima za posljedicu snažni proupalni, prokagulacijski, proadhezivni i proapoptični odgovor koji dovodi do disregulacije vaskularnog tonusa, povećane propusnosti krvnih žila, povećane adhezije i migracije leukocita uzrokujući razvoj šoka i višeorganskog zatajenja. U ovom preglednom radu prikazani su struktura i funkcija endotela i EG, opisani su mehanizmi njihovoga oštećenja tijekom sepse te posljedice koje nastaju njihovom disfunkcijom. Nadalje, iznijete su do sada poznate činjenice o metodama detekcije endotelne disfunkcije te mogućnostima njenog liječenja u sepsi s ciljem unapređenja liječenja septičnih bolesnika.

SUMMARY. Under physiological conditions, the endothelium is a dynamic structure important for maintaining blood vessel tone, regulating blood flow along vessel walls, vascular permeability, coagulation pathways, and leukocyte adhesion. In sepsis, exposure to pathogens and their soluble factors leads to activation of the endothelium, damage to the endothelial glycocalyx (EG), and initiation of numerous mechanisms that play a key role in the development and progression of sepsis. In addition, endothelial dysfunction and damage to the EG result in a potent proinflammatory, procoagulant, proadhesive, and proapoptotic response, leading to dysregulation of vascular tone, increased vascular permeability, increased leukocyte adhesion and migration, and the development of shock and multiorgan failure. In this review, the structure and function of the endothelium and EG are summarized and the mechanisms of their damage during sepsis as well as the consequences of their dysfunction are described. In addition, available knowledge about the methods of detecting endothelial dysfunction and the possibilities of its treatment in sepsis are presented, with the aim of improving the treatment of septic patients.

Sepsa je životno ugrožavajuća disfunkcija organa posredovana disreguliranim odgovorom domaćina na infekciju te je praćena viskom stopom pobola i smrtnosti (1). Sustavna je bolest koja zahvaća sve organe i organske sustave uključujući i endotel za koji je smatra da je prvi koji je zahvaćen u sepsi i koji potiče snažan odgovor organizma na infekciju (2). Tijekom sepse, molekularni obrasci povezani s patogenima, PAMPs (eng. *pathogen-associated molecular pattern*) se vežu za receptore na endotelnim stanicama, dovode do njihove aktivacije, narušavanja njihove strukture i funkcije (3). Aktivirane endotelne stanice luče vazoaktivne tvari, proupalne citokine i kemokine (2). Uslijed upalnoga odgovora, u sepsi dolazi do oštećenja endotelnog glikokaliksa (EG) te povećanja koncentracije raspadnih produkata EG-a u cirkulaciju (4). U fiziološkim uvjetima postoji ravnoteža reaktivnih oksidansa i antioksidansa na razini metabolizma endotelnih stanica. Međutim, u sepsi dolazi do narušavanja ravnoteže i

povećane proizvodnje reaktivnih oksidansa te posljedičnog oksidacijskog stresa. Nadalje, dolazi do nakupljanja neutrofila i makrofaga na mjestu infekcije što dodatno oštećuje endotel. Aktivirani i disfunkcionalni endotel dovodi do proupalnog, proapoptičnog, proadhezivnog i prokagulacijskog stanja što ima za posljedicu poremećaj mikrocirkulacije, povećanu kapilarnu propusnost i poremećenu tkivnu perfuziju (5).

Struktura i funkcija endotelnog glikokaliksa

Endotelne stanice su na svojoj luminalnoj površini pokrivene EG-om, želatinoznim slojem glikoziliranih

✉ Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. sc. Vlatka Sotošek, dr. med., <https://orcid.org/0000-0003-2645-5364>
Katedra za anesteziologiju, reanimatologiju, hitnu i intenzivnu medicinu,
Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka, Hrvatska,
Katedra za kliničke medicinske znanosti II, Fakultet zdravstvenih studija,
Viktora cara Ermina 2, 51 000 Rijeka, Hrvatska; e-pošta: vlatkast@uniri.hr

proteina (6) koji sprječavaju izravni dodir krvnih elemenata sa stijekom krvne žile (7). On ima važnu ulogu u fiziologiji krvnih žila utječući na propusnost žilne stijenke, adheziju leukocita u početnim fazama upalnog i imunskog odgovora te sprječavanje zgrušavanja krvi (8). EG proizvode endotelne stanice, a razgrađuje se djelovanjem mehaničkih i biokemijskih podražaja (9). Kako iza oštećenja slijedi proces obnavljanja, EG predstavlja vrlo dinamičnu strukturu koja se neprestano mijenja (10). Mehaničko oštećenje je posljedica stalnog dodira EG s tlakom u krvnih žilama i deformacijama izazvanim stresom sile smicanja uslijed trenja nastalog između struje krvi i endotelnih stanica. Obzirom da je EG izravno povezan sa staničnom membranom i citoskeletom, zamijećeni stres smicanja (mehanosenzacija) prenosi (mehanotransdukcija) na endotel (11). Na taj način EG pretvara sile nastale krvnom strujom u funkcijske i genetičke promjene unutar endotelnih stanica (12). Primarni rezultat je aktivacija sintaze endotelnog dušikovog oksida (eNOS), što rezultira povećanom proizvodnjom i otpuštanjem dušikova oksida (NO) koji utječe na tonus krvnih žila i izaziva vazodilataciju (13). Time se modulira lokalna opskrba kisikom, što doprinosi održavanju homeostaze u perifernim tkivima (14). Ovakve funkcijske značajke EG-a omogućene su njegovom strukturom. Glavne komponente EG-a su proteoglikani i glikoproteini, adhezijske molekule koje su izravno povezane s endotelnim stanicama. One tvore mrežu u koju se ugrađuju različite molekule, većinom plazmatski proteini, različiti enzimi i kofaktori (15, 16). Proteoglikani tvore bazičnu strukturu EG-a. Sastoje se od proteinske jezgre na koju su kovalentnim vezama pričvršćeni glikozaminoglikani (GAG), dugi nerazgranati lanci građeni od disaharida (17). Neki od GAG-a su heparan sulfat (koji čini do 90% GAG-a), hondroitin sulfat, hijaluronska kiselina i dermatan sulfat (12, 18). Upravo sulfonacija GAG-a najviše pridonosi negativnom naboju EG-a, a time i vezivanju proteina iz krvi na EG (19) i regulaciji žilne propusnosti (11).

Dvije glavne vrste proteoglikana u EG-u su sindekani i glipikani, a uz njih i biglikani, dekorini, mimekani i perlekani. Za sada su poznate četiri vrste sindekana (sindekan-1, 2, 3 i 4), od kojih je u EG-u najzastupljeniji sindekan-1 (20). Sindekani su transmembranski proteini pa stoga imaju izvanstanične, transmembranske i citosolne domene. Izvanstanična domena veže GAG i prima izvanstanične signale, koji se potom prenose preko transmembranskog i citosolnog odsječka. Rep citosolnog odsječka je u kontaktu s proteinom kinaza C, preko koje može pokrenuti brojne unutarstanične signalne puteve (20). Zbog svoje povezanosti s proteinima citoskeleta, sindekani sudjeluju u procesu mehanotransdukcije (21). Poznato je i da sindekani sudjeluju u regulaciji upalnog odgovora. Naime, GAG lanci u molekuli sindekana vežu citokine i pokreću

upalni odgovor. Dosadašnja istraživanja pokazuju da su sindekani uključeni u različite aspekte upale, da se njihov izražaj povećava tijekom upale te da postoji povezanost između koncentracije sindekana u serumu i jačine upale (20).

Što se tiče glipikana, u sisavaca je do sada utvrđeno postojanje šest glipikana, ali je glipikan-1 jedini koji je izražen na endotelnim stanicama (22). On se sastoji od proteinske jezgre i tri lanca heparan sulfata (23). Za razliku od sindekana, glipikani nisu transmembranski proteini, već se za membranu vežu preko spojnih molekula glikozilfosfatidilinozitola i to u područjima lipidnih splavi vrlo bogatim signalnim molekulama (24). Stoga glipikan-1 ima ulogu koreceptora u brojnim signalnim putevima i sposobnost modulacije tih puteva, a sudjeluje i u procesima mehanosenzacije i mehanotransdukcije (23). Istraživanja na staničnom i animalnom modelu pokazala su da inhibicija glipikana-1 rezultira poremećajem funkcije endotelne stanice te razvojem upale potaknute povećanim izražajem upalnih gena i adhezijom monocita, kao i inhibicijom izražaja NO (12).

Glikoproteini imaju kratke ugljikohidratne bočne lance koji završavaju sijaličnom kiselinom (25). Ona značajno pridonosi negativnom naboju EG-a koji služi kao barijera za prolaz negativno nabijenih molekula i stanica, uključujući eritrocite i aktivirane trombocite (11). Mnogi glikoproteini pripadaju staničnim receptorima iz skupina selektina, integrina ili imunoglobulina. Od osobitog značaja su njihove varijabilne izvanstanične domene koje im omogućuju specifične funkcije. Tako kod selektina vežu ugljikovodične skupine, kod imunoglobulina sudjeluju u prepoznavanju vlastitih antigena, a kod integrina služe kao receptori za proteine izvanstaničnog matriksa (16).

Osim do sada navedenih funkcija, EG ima središnju ulogu u obrani krvožilnog sustava i tkiva od različitih patogena osiguravajući fizičku barijeru i sprječavajući adheziju (11). Naime, kada bakterije uđu u krv moraju proći kroz endotelne stanice da bi kolonizirale tkiva. Kako većina bakterija ima negativno nabijenu površinu, negativno nabijeni EG ih odbija i sprječava njihov prodor u endotelne stanice (26). Međutim, snažna upala i aktivacija endotelnih stanica narušava ravnotežu i dovodi do oštećenja EG-a.

Oštećenje endotela i endotelnog glikokaliksa u sepsi

Oštećenje endotela i upala

Ulaskom patogena i njihovih topljivih čimbenika u krv te razvojem sepse vrlo brzo dolazi do aktivacije endotela i razvoja snažnog upalnog odgovora. Smatra se da su aktivacija endotela i oštećenja EG-a glavni modulatori upalnog odgovora u sepsi (27). Snažni upalni odgovor koji se javlja u sepsi, a potaknut je pa-

togenom, potiče lučenje brojnih proupalnih citokina [interleukina (IL)-1, čimbenika tumorske nekroze alfa (TNF-a, eng. *tumor necrosis factor alpha*, IL-6, IL-12, IL-17] iz aktiviranih limfocita (28). Nadalje, endotelne stanice izražavaju na svojoj površini receptore za prepoznavanje signala opasnosti, tzv. PRRs (od eng. *pattern recognition receptors*) i PAMPs čija je uloga prepoznavanje molekularnih obrazaca na patogenima (3). U ovu skupinu ubraja se nekoliko vrsta membranskih receptora poput CD205, CD206, CD209 te najviše istraživani receptori slični Toll-u, TLRs (od eng. *Toll like receptors*) (3). Tijekom sepse, lipopolisahardi (LPS) Gram-negativnih bakterija se vežu za TLR4 koji je je obilno izražen na aktiviranim endotelnim stanicama te se pokreće put signaliranja koji uključuje aktivaciju nuklearnog faktora-kB (NF-kB) s posljedičnim prepisivanjem proupalnih gena i sinteze proupalnih citokina, osobito IL-1b, IL-6 i TNF-a. Izlučeni proupalni citokini imaju značajnu ulogu u pojačavanju upalnog i modulaciji imunog odgovora. Dodatno, IL-1b, IL-6 i TNF-a vežu se za endotelne stanice, potiču izražaj adhezijskih molekula, osobito selektina (E-selektin, i P-selektin), integrina, članova superobitelji imunoglobulina (ICAM, eng. *intracellular adhesion molecules*) i vaskularnih adhezijskih molekula-1 (VCAM-1, eng. *vascular cell adhesion molecule-1*) na njihovoj površini te omogućuju vezivanje leukocita i njihovo kotrljanje na površini endotela u prvoj fazi bolesti (27, 29). U drugoj fazi bolesti, leukociti se dodatno aktiviraju kemokinima (CXCL1, CXCL2, CXCL5 i CXCL8) koje luče aktivirani makrofazi i endotelne stanice. Aktivirani leukociti dodatno se vežu za adhezijske molekule na površini aktiviranih endotelnih stanica čime se omogućuje njihov izlazak iz cirkulacije (30). Jedna od tih adhezijskih molekula na koju se vežu leukociti su selektini, koji se dodatno aktiviraju i pojačavaju upalni odgovor (31). Kako se upala pojačava, adhezijske molekule se odvajaju od endotela i EG-a te se mogu naći u povišenim koncentracijama u plazmi septičnih bolesnika (32). Pokazalo se da povišene serumske koncentracije E-selektina, P-selektina, ICAM-1, VCAM-1 koreliraju s težinom sepse i smrtnošću (33–35). Nadalje, aktivacija endotela i oštećenje EG-a potiču kompenzacijski protuupalni odgovor u endotelnim stanicama, nishodno reguliraju i izražaj adhezijskih molekula i proupalnih citokina, suprimiraju mitogen aktiviranu protein kinazu (MAPK, eng. *mitogen activated protein kinase*) i put aktivacije NF-kB (36).

Oštećenje endotela i koagulopatija

Endotel zajedno s EG-om posjeduje svojstva koja u fiziološkim uvjetima sprječavaju aktivaciju puteva zgrušavanja krvi lučenjem antikoagulacijskih molekula kao što su inhibitor tkivnog puta (TFPI, eng. *tissue factor pathway inhibitor*), protein C receptor i trombomodulin te time omogućuju nesmetani protok krvi

kroz krvne žile (37). Antikoagulacijska obilježja endotela su narušena u sepsi (38, 39). Proupalni posrednici inaktiviraju TFPI, a aktivirane endotelne stanice na svojoj površini izražavaju tkivni faktor (TF) kojim započinje unutrašnji put zgrušavanja krvi (40). Aktivirani TF ima visoki afinitet vezanja za faktore VII i X koje aktivira i time započinje prokoagulacijsku kaskadu s posljedičnim stvaranjem trombina, fibrina i aktivacijom trombocita (41).

Nadalje, u sepsi endotel luči povećane koncentracije inhibitora aktivatora plazminogena-1 (PAI-1, eng. *plasminogen activator inhibitor-1*) koji potiskuje put fibrinolize. Visoke koncentracije PAI-1 u plazmi septičnih bolesnika povezuje sa visokom pojavom višeorganskog zatajenja (42). Neravnoteža između protrombotičkog i antifibrinolitičkog puta u sepsi dovodi do razvoja diseminirane intavaskularne kogulopatije koja pogoršava tijek liječenja bolesnika sa sepsom (43).

Endotelne stanice u sepsi upravljaju procesom zgrušavanja krvi uzrokujući aktivaciju trombocita (44). Aktivirani trombociti luče brojne citokine (IL-1a) i kemokine (CCL2) s posljedičnom pojačanim izražajem ICAM-1 na površini endotelnih stanica (45). U sepsi su trombociti značajni izvor mikročestica koje pojačavaju sustavni upalni odgovor.

Oštećenje endotela i povećana propusnost

Endotel ima značajnu ulogu u selektivnoj propusnosti i regulaciji vaskularne ravnoteže koja je posljedica različitih adherentih veza kadherina i tijesnih spojeva kladina-okludina (46, 47). U sepsi proupalni posrednici uzrokuju fosforilaciju unutarstanične domene kadherina vaskularnog endotela, njegovu internalizaciju putem vezikula bogatih klatrinom, a to dovodi do pojačane propusnosti (48–49). Nadalje, snažni proupalni odgovor dovodi do kidanja tijesnih spojeva smanjivanjem koncentracije okludina (50). Visoke koncentracije TNF-a u sepsi odgovorne su za cijepanje kladina-5 i posljedično povećanje endotelne propusnosti (51). U održavanju propusnosti endotela značajnu ulogu imaju angiopoetin-1 (Ang-1) i angiopoetin-2 (Ang-2) te njihovi transmembranski endotelni tirozin kinaze receptori Tie1 i Tie2 (52). Ang-1 svojim vezivanjem na Tie 2 djeluje antagonistički te potiče preživljavanje i migraciju endotelnih stanica te sprječava propusnost vaskularnog endotela (53), dok Ang-2 djeluje suprotno, antagonizira učinak Ang-1 i uzrokuje povećanu propusnost endotela (52). Ang-2 je ushodno reguliran u bolesnika sa sepsom te korelira s težinom bolesti (54), a pretpostavlja se da je njegov izražaj posljedica snažne proupalne citokinske stimulacije (55).

Oštećenje endotela i slobodni kisikovi radikali

Endotel je jedan od izvora stvaranja i lučenja reaktivnih kisikovih radikala (ROS, eng. *reactive oxygen spe-*

cies) i reaktivnih dušikovih radikala (RNS, eng. *reactive nitrogen species*) važnih u održavanju vaskularne popustljivosti, angiogeneze i odgovora na akutnu upalu (56). U fiziološkim uvjetima održava se ravnoteža stvaranja i odstranjivanja ROS-a i RNS-a. Superoksid (O_2^-) koji se stvara odmah se pretvara u vodikov peroksid (H_2O_2) uz pomoć superoksid dizmutaze (SOD), a potom katalazom i peroksidazom u vodu. Za aktivnost SOD-a potrebni su različiti enzimatski i neenzimatski sustavi kako bi se održala ravnoteža stvaranja i aktivnosti ROS-a. Međutim u patološkim uvjetima, kao što je sepsa dolazi do pojačanog stvaranja i lučenja ROS-a, RNS-a te smanjene i neprikladne aktivnosti antioksidacijskog sustava (5, 57). U sepsi, aktivirani limfociti pojačano luče ROS i RNS koji dovode do oštećenja EG-a, ali i aktivacije endotelnih stanica koje također stvaraju ROS i RNS kao posljedicu mitohondrijske disfunkcije (58). Mitohondrijska disfunkcija, aktivacija ksantin oksidaze, eNOS-a, enzima P-450 citokroma, lipooksigenze i NADPH oksidaze uzorkuju pojačano stvaranje i lučenje ROS-a (3).

Dodatno, pojačani izražaj eNOS-a značajno povećava stvaranje NO (59) koji stimulira topljivi oblik guanilat ciklaze na stvaranje povećane koncentracije cGMP-a u glatkim mišićima krvnih žila (59, 60).

Povećano stvaranje ROS-a i RN-aS u sepsi dovodi do oksidacije bjelancevina i lipida te oštećenje DNK. Rezultat je smanjenje vaskularnog tonusa, promjene koagulacije, oštećenje EG-a, pojačan izražaj adhezijskih molekula, vezivanje limfocita i trombocita za stijenku endotela te pojačana vaskularna propusnost (5).

Posljedice endotelne disfunkcije u sepsi

Tijekom upale narušava se homeostaza endotelnog sloja (61, 62). Endotelne stanice krvnih žila prve dolaze u kontakt s patogenima ili štetnim metabolitima pa je njihova reakcija među prvim upozorenjima na potencijalnu opasnost (63, 64). Poticanje endotelnih stanica stranim antigenima dovodi do brzog odgovora, koji nije ovisan o izražaju gena i odgovor je na ligande, koji se vežu na stanične receptore endotelnih stanica s posljedičnom provodnjom signala u stanicu. Novonastali signal razvija u endotelnim stanicama nove funkcije, koje ih čine aktivnim sudionikom u upalnom procesu (28). U životinjskim eksperimentalnim modelima i u ljudi LPS potiče lučenje IL-1b, IL-6 i TNF- α iz endotelnih stanica, što se laboratorijski očituje u porastu CRP-a i aktivaciji proupalnog imunološkog odgovora (65–68). Iako mnogi receptori stimuliraju NF- κ B put (69), aktivacija TLR4 pomoću TNF- α , IL-1b ili stimulacije s LPS-om iz Gram-negativnih bakterija su značajni mehanizmi aktivacije u upalnom okruženju poput sepse, jer potiču klasičnu aktivaciju makrofaga (70), ali i potencijalnih antigen predočnih stanica poput endotelnih stanica. To potvrđuju povećane koncentracije IL-1b, TNF- α u plazmi bolesnika

tijekom sepse (2, 28, 67). Osim stvaranja i lučenja IL-1b i TNF- α , prijenos signala putem NF- κ B može uzrokovati bezbrojne varijacije u izražaju gena ovisno o međudjelovanju s drugim signalnim putovima, koji trenutno postoje u stanicama (69). To stvara specifične odgovore endotelnih stanica i makrofaga u različitim tkivima i uvjetuje njihovo međudjelovanje s limfocitnim subpopulacijama u sepsi (71, 72). Regrutirani bazofili mogu lučiti histamin koji stimulira endotelnu stanicu povišenjem razine unutarstaničnog kalcija (73). Posljedica toga je stvaranje prostaciklina i NO-a, koji dovode do vazodilatacije, koja se u tkivu očituje kao hiperemija, smanjenje perifernog otpora i smanjenje arterijskog tlaka specifičnih za šok (73). Dolazi do kontrakcije aktinskih niti u endotelnim stanicama čime se otvaraju procijepi među susjednim endotelnim stanicama, što je najjače izraženo u postkapilarnim venulama te dolazi do pojačane propusnosti endotela i izlaska proteina i stanica u međustanični prostor, koji postaje poprište djelovanja regrutiranih leukocita u akutnoj upali, a rezultira otjecanjem upaljenog tkiva (73). Wiebel-Paladijeva tjelešca oslobađaju svoj sadržaj egzocitozom, a adhezijske molekule poput P-selektina se ugrađuju u staničnu membranu endotelnih stanica uz čimbenik aktivacije trombocita čime se omogućava adhezija krvnih stanica za endotel. Pod utjecajem kemokina CXCL8 najprije izlaze neutrofilni iz kapilara u međustanični prostor (74). To je preduvjet za početno stvaranje staničnog (tvrđog) upalnog infiltrata, za razliku od mekog otjecanja, koji nastaju prvenstveno zbog veće količine vode i fibrinogena u međustaničnom prostoru (73). Daljnji izlazak proteina i stanica iz kapilara potkrijepljen je upalnim tvarima, koje luče cirkulirajući leukociti i leukociti tijekom leukodijapedeze. Kako upalni proces napreduje, endotelne stanice i dalje postupno mijenjaju fenotip tj. izražaj adhezijskih molekula i kemokina, a time i propusnost za leukocitne podvrste koje se regrutiraju u upalni infiltrat (73). U tkivima se neutrofilni infiltrat postepeno zamjenjuje monocitima pod djelovanjem adhezijskih molekula VCAM1 i ICAM te izražajem proupalnog kemokina CCL2 (73). CCL-2 privlači proupalno aktivirane monocite koji izražavaju CC receptor (CCR) 2 na mjesto upale (70, 72, 74). Nadalje aktivirani endotel u upali stvara puno IL-15 koji je odgovoran za regrutiranje aktiviranih i mirujućih stanica NK i njihovu daljnju aktivaciju u tkivu (75). Stanice NK još uvijek predstavljaju nespecifični upalni odgovor, koji uvijek prethodi specifičnoj imunološkoj reakciji. CCL-3, izražen na endotelnim stanicama u sepsi (76) privlači širi raspon stanica (proupalno aktivirane pomoćničke limfocite T, stanice NK, monocite i dendritične stanice) nakon povezivanja s CCR1 ili CCR5 na njihovim staničnim membranama (77, 78). U skladu s time, pomoćnički limfociti T, aktivirane stanice NK i monociti/makrofagi se regrutiraju u upaljeno

tkivo tijekom sepse (79). To se događa kada nespecifična upalna reakcija ne uspije otkloniti uzrok upale, a upalni se proces nastavlja specifičnom imunološkom reakcijom posredovanom limfocitima T i B (73, 79). Endotelne stanice tada poprimaju ulogu antigen predočnih stanica koje predočavaju antigene izvršnim limfocitima T (64, 73). Potiču umnožavanje limfocita T i stvaranje citokina te pamćenje reakcije prema određenom antigenu (63). Izražaj MHC I i MHC II molekula pretežno na endotelnim stanicama malih krvnih žila je odgovorno za prosljeđivanje prvog signala aktivacije limfocita T (63). Kostimulacijske molekule CD80 i CD86 na edotelnoj stanici, sudjeluju u provodnji drugog aktivacijskog signala za limfocite T putem njihova receptora CD28 (80, 81,82). Osim toga, endotelne stanice imaju ligande za dodatne kostimulacijske puteve preko CD2 molekule, 4-1BB, OX40 i ICOS (eng. *inducible T cell co-stimulator*) koji posreduju razvoj limfocita T s pamćenjem (64). Lučenje proupalnih citokina i kemokina iz endotelnih stanica aktiviranih s LPS-om predstavlja treći signal za limfocite T, koji ih orijentira u lučenje proupalnih citokina i kemokina (83, 84, 85) i usmjerava imunološki odgovor prema proupalnim imunološkim zbivanjima u sepsi (79). Time regrutirane leukocitne subpopulacije funkcijski sazrijevaju, postaju citotoksične, luče dodatne proupalne citokine i brzo se množe na mjestu upale shodno djelovanju proupalnih tvari s ciljem učinkovitog uklanjanja zaraženih stanica i mikroorganizama iz izvanstaničnog prostora (64, 79). Kada je prisutna trajna upala zbog nemogućnosti otklanjanja uzroka, endotelne stanice sudjeluju u procesu angiogeneze i stvaranju novih krvnih žila što omogućava djelovanje lokalno nakupljenih imunoloških stanica koje se na tom području mogu čak organizirati u tercijarne limfne organe (64, 79). U tom slučaju endotelne stanice venula mijenjaju znatno svoj izgled i funkciju kako bi omogućile imunološkim stanicama ulazak u upalno područje (79).

Tijekom tako aktivnog upalnog procesa, aktivacija NF-kB u stanici ima dvostruko djelovanje (66, 69). Umjereno stimulirano NF-kB signaliranje potiče stanično umnažanje i stjecanje novih funkcija, dok njegova snažna aktivacija potiče staničnu smrt apoptozom na način ovisan o kaspazama (69, 86). Stoga tijekom upalnog procesa u sepsi dolazi do oštećenja endotelnih stanica i do njihove smrti što je posredovano s TNF- α , IL-1 i interferona gama (IFN γ) koje luče proupalno aktivirani leukociti (86). S gubitkom normalne funkcije, endotelne stanice podržavaju prokoagulantno stanje te dolazi do stvaranja ugrušaka čime se ograđuje upalno područje (73, 87). Kada se upalni poticaj ukloni, može početi proces stišavanja upalnog odgovora i cijeljenje (73).

Svi glavni znakovi upale (bol, toplina, crvenilo, otjecanje i oštećena funkcija) posljedica su međudjelova-

nja endotelnih, imunoloških i tkivnih stanica u upalnom području (88).

Tehnike utvrđivanja endotelne disfunkcije u sepsi

Endotelna disfunkcija ima vrlo značajnu ulogu u patogenezi sepse, stoga je ključno prepoznati i detektirati njeno postojanje u cilju pružanja adekvatne terapije životno ugroženim bolesnicima. Postoji određeni broj biomarkera koji se mogu koristiti za procjenu postojanja endotelne disfunkcije. U njih se ubrajaju von Willebrandov faktor, E-selektin, ICAM-1, VACAM i molekule slične bioreaktivnosti. Najčešće se njihova koncentracija određuje u serumu, korištenjem tehnika poput enzimski vezanog imunoapsorpcijskog testa (ELISA) i enzimskog imunoeseja (EIA). Moguće je kvantificirati prisutnost ključnih biomarkera i ostalim biokemijskim metodama poput Westen blot analize, spektrometrijom mase i sl., no one se rjeđe koriste (89). Mjerenje koncentracije dušikovog oksida u cirkulaciji također može koristiti kao pokazatelj endotelne disfunkcije (90). U tu svrhu koristi se nekoliko metoda, među kojima spektrofotometrijski ili kolorimetrijski Griesseov test, mjerenje izdahnutog dušikovog oksida (osobito kao marker oštećenja pluća u sepsi), metode određivanja dušikovog oksida kemiluminiscencijom, mjerenje aktivnosti sintetaze dušikovog oksida sl. Test provokacije endotela se može koristiti za određivanje stupnja endotelne disfunkcije. Ova tehnika uključuje aplikaciju otopine acetilkolina koji potiče endotel na oslobađanje dušikovog oksida te se potom mjeri odgovor krvnih žila na acetilkolin kako bi se procijenila endotelna disfunkcija. Također, koristi se i mjerenje vaskularne reaktivnosti, tehnika koja uključuje mjerenje promjena u promjeru krvnih žila nakon primjene određenog podražaja (91). Mikrocirkulacijskom tehnologijom se mjeri protok krvi i hemodinamički parametri u mikrocirkulaciji, poput kapilarne reaktivnosti, što može ukazati na prisutnost endotelne disfunkcije. Obzirom da su endotelne stanice odgovorne za regulaciju protoka krvi u kapilarama, njihovo oštećenje može dovesti do smanjenog protoka krvi i posljedičnog oštećenja tkiva. Među mikrocirkulacijskim tehnologijama ističe se videomikroskopija, koja omogućuje vizualizaciju mreže kapilara te mjerenje protoka krvi u njima kao i mogućnost širenja i skupljanja kapilara u smislu odgovora na promjene u protoku krvi. Ako je reaktivnost kapilara i protok krvi u njima smanjen, to može biti indikacija oštećenja endotela. Za procjenu endotelne disfunkcije u najnovije vrijeme uvodi se instrument GlycoCheck[®], medicinski uređaj za procjenu funkcije endotela mjerenjem pokretljivosti eritrocita u najsitnijim kapilarama videomonitoringom sublingvalnih kapilara, s vrlo visokim kliničkim potencijalom. Pouzdanost ovog instrumenta potvrđena je različitim znanstvenim i kliničkim istraživanjima

te se sve više promovira u cilju uvođenja kao standardne kliničke metode procjene mikrocirkulacije (92, 93). Sublingvalna regija se najčešće koristi za proučavanje mikrocirkulacije zbog blizine arterije jezika kao grane vanjske arterije glave, što omogućuje uvid u reaktivnost središnje cirkulacije. Međutim, za proučavanje mikrocirkulacije koriste se i druge vaskularne strukture poput konjunktivalne i periferne mišićne mikrovaskulature (94). U ovom kontekstu osobito se ističe NOSTRADAMUS studija kojom se detaljno objašnjava važnost GlycoCheck uređaja u provođenju postupaka kvantifikacije kinetike eritrocita što predstavlja ključ za razumijevanje mikrovaskularne disfunkcije u sepsi. Ovaj sustav predstavlja vrijednu metodu otkrivanja mikrovaskularne disfunkcije, što može poslužiti kao ključan alat za otkrivanje mikrovaskularnih oštećenja kod kritično oboljelih bolesnika (95). Važno je napomenuti da nijedna tehnika nije savršena te se često koristi kombinacija nekoliko metoda kako bi se omogućilo sveobuhvatnije razumijevanje prisutnosti endotelne disfunkcije u sepsi.

Mogućnosti liječenja endotelne disfunkcije u bolesnika sa sepsom

Korekcija volumena tekućine i suplementacija proteinima

U sepsi je prisutna disfunkcija makrocirkulacijskog i mikrocirkulacijskog sustava, no stupanj oštećenja EG i poremećaj mikrocirkulacije nisu uvijek u korelaciji (96). Dodatno, nadoknada tekućine može uzrokovati ijatrogeno oštećenje EG uz povećanje koncentracije heparan sulfata za svaku litru intravenski primijenjene tekućine (97). Također, hipervolemija može uzrokovati oštećenje EG. Osnovni princip primjene tekućine preporuča „zero balance“ pristup u svih bolesnika, održavanje središnje euvolemije, kao i izbjegavanje hipervolemije. Restriksijska primjena tekućine djeluje zaštitno na EG u usporedbi s „liberalnim“ pristupom te smanjuje poslijeoperacijski morbiditet i trajanje hospitalizacije (98, 99).

Albumin i svježa smrznuta plazma su krvni produkti koji se mogu primijeniti u regeneraciji EG (91). Primjena svježe smrznute plazme povećava debljinu EG i koncentraciju sindekana-1 nakon krvarenja (100, 101). Pozitivni učinci svježe smrznute plazme na EG djelomično se pripisuju djelovanju fibrinogena, iako potencijalni terapijski učinak fibrinogena nije u potpunosti razjašnjen (102).

Uočeno je da albumin ima zaštitni i regeneracijski učinak na EG (103, 104) fizički pojačavajući strukturu EG, sprječavajući oštećenje EG i time održavajući integritet jednoslojnog endotela putem transporta sfingozin-1-fosfata (105, 106). Dodatno, albumin prenosi sfingozin-1-fosfat koji čuva EG inhibirajući razgradnju sindekana-1 (107).

Održavanje normoglikemije

Pokazano je da akutna i kronična hipoglikemija mogu uzrokovati oštećenja EG (108) te je stoga važno održavanje normoglikemije (između 5 do 10 mmol/L), obzirom da se pokazalo kako kratkotrajna hiperglikemija može uzrokovati oštećenje EG (109, 110) 37,38). O'Hora i suradnici pokazali su da inzulin i metformin uzrokuju dilataciju arterija direktnim djelovanjem na NO u anestetiziranih svinja (111). Pokazano je također da empagliflozin, inhibitor natrij-glukoza ko-transportera-2 (SGLT2i, eng. sodium-glucose co-transporter-2 inhibitor) čuva integritet EG, povećava sintezu heparan sulfata i uspostavlja mehanotransdukcijski odgovor endotelnih stanica (112).

Metformin je bigvanidni antidijabetik koji snižava vrijednosti koncentracije glukoze u cirkulaciji te je predloženo njegovo zaštitno djelovanje protiv vaskularnih komplikacija (113). Metformin smanjuje učinak hiperglikemije i povećava gustoću i debljinu EG zajedno s učinkom na njegovu funkciju, snižavanjem hiperglikemijom-induciranih endotelnih adhezijskih molekula E-selectin i ICAM-1 (113). Također, metformin snižava koncentraciju IL-1, IL-6, TNF-a (114).

Izbjegavanje hiperoksije

Temeljem pretpostavke da poboljšana dostava kisika u tkiva poboljšava obranu od bakterija putem oksidacijskog stresa (115, 116), hiperoksija je predložena kao jedna od terapijskih mogućnosti liječenja septičnih bolesnika (117). Iako su određene manje studije pokazale ohrabrujuće rezultate utjecaja hiperoksije na ishod liječenja septičnih bolesnika (118, 119), opsežna HYPERS2S studija pokazala je visoki mortalitet bolesnika sa sepsom uz primjenu hiperoksije te je studija prekinuta (120). Učinak hiperoksije djelomično se pripisuje povišenom stvaranju ROS-1 (121).

Ograničavanje sinteze NO

Nakon prepoznavanja NO kao središnjeg medijatora vazoplegije u septičkom šoku, nekoliko studija istraživalo je djelovanje inhibitora NO sintaze, no pokazalo se da niti jedan od inhibitora NO sintaze nije imao pozitivan učinak na ishod liječenja septičnih bolesnika (123, 124). Kompleksna uloga NO u makro i mikrocirkulaciji, dinamična regulacija, kao i biološka dostupnost NO tijekom sepse i septičnog šoka može objasniti neuspjeh pristupa putem inhibicije produkcije NO (122).

Protuupalno djelovanje i oksidacijski stres

Upalni podražaji povećavaju stvaranje ROS, RNS te proupalnih citokina koji aktiviraju metaloproteinaze, enzime koji cijepaju proteoglikane uzrokujući oštećenje EG (125). Stoga, blokiranje proupalne kaskade može smanjiti oštećenje EG (126). Povećano oštećenje EG dovodi do povećane koncentracije sindekana, he-

paran sulfata i hijaluronana u plazmi koje je učeno u bolesnika sa sepsom te je u pozitivnoj korelaciji s težinom kliničke slike (127, 128). Treba imati na umu da terapijski pristup koji smanjuje imunološki odgovor bolesnika čini bolesnika podložnim infekcijama.

Pokazano je da etarnecept, inhibitor TNF-a smanjuje upalom inducirano oštećenje EG (129,130). Nieuwdorp i suradnici uočili su da etanercept snižava endotoksinom-inducirane povišene koncentracije hijaluronske kiseline i hijauronidaze u plazmi i smanjuje endotoksinom induciranu redukciju debljine EG, ali ne na vrijednosti prije primjene endotoksina (131).

Chappell i suradnici potvrdili su da preventivna primjena hidrokortizona smanjuje oštećenje EG uzrokovanu primjenom TNF- α ili ishemijskom u pokusnim životinjama (130). Dodatno, hidrokortizon se pokazao učinkovit u prevenciji degradacije EG i potpunoj prevenciji razgradnje sindekan-1 i heparan sulfata u upalnim stanjima uzrokovanim djelovanjem TNF-a te se stoga preporuča u liječenju septičnih bolesnika (130).

In vivo i *in vitro* studije potvrdile su središnju ulogu vitamina C u patofiziologiji sepse (132, 133). Suplementacija vitaminom C inhibira replikaciju bakterija, sprječava oštećenje endotelnih stanica djelovanjem H₂O₂ te poboljšava mikrovaskularnu perfuziju (134). Mala retrospektivna studija u bolesnika sa sepsom i septičkim šokom utvrdila je da rana primjena intravenskog vitamina C, kortikosteroida i tijamina smanjuje progresivnu disfunkciju organa i mortalitet (135). Nažalost, novije randomizirane studije nisu potvrdile učinkovitost te kombinacije (136, 137). U drugoj studiji suplementacija vitamina C i E u kritički bolesnih tijekom 10 dana pokazala je smanjenje mortaliteta u antioksidacijskoj skupini u usporedbi s kontrolnom skupinom (138). Međutim, u drugoj velikoj kliničkoj studiji kombinacija antioksidansa (beta-karoten, vitamini C i E) i glutamina nije poboljšala ishod liječenja dok je primjena glutamina bila povezana s povišenim mortalitetom životno ugroženih bolesnika (139).

N-acetilcistein ima izravan antioksidacijski učinak te je potencijalni kandidat za sprječavanje sustavnog i endotelnog oksidacijskog stresa (140). *In vitro*, N-acetilcistein smanjuje apotopozu endotelnih stanica induciranu plazmom bolesnika sa sepsom za 20% (141).

Primjena N-acetilcisteina i glutaciona smanjuje peroksidacijski stres u bolesnika sa septičkim šokom te rezultira smanjenjem mortaliteta u odnosu na kontrolnu skupinu (142). Primjena N-acetilcisteina snižava NF- κ B aktivaciju u mononuklearnim stanicama periferne krvi i koncentraciju IL-8 u plazmi (143). Istraživanja su pokazala potencijalni pozitivan učinak primjene N-acetilcisteina u ublažavanju upalnog odgovora u sepsi, ali niti jedna studija nije pokazala značajno smanjenje mortaliteta u sepsi (144).

Nadalje, istraživanja su pokazala da statini mogu spriječiti endotelnu disfunkciju smanjujući izražaj

adhezijskih molekula (145). Pokazano je da niska doza simvastatina smanjuje izražaj VCAM-1 i ICAM-1 molekula (145). Dodatno, u bolesnika sa septičkim šokom pokazano je da atorvastatin snižava koncentraciju IL-1, IL-6, TNF-a i IFN γ , ali ne smanjuje smrtnost (146). Pokazano je da rosuvastatin značajno povećava volumen, ali ne smanjuje propusnost EG u bolesnika s hiperkolesterolemijom što ukazuje ograničavajući učinak na regeneraciju EG (146).

Antikoagulansi

Antikoagulant antithrombin široko se primjenjuje u liječenju diseminirane vaskularne koagulacije uzrokovane sepsom. Chappell i suradnici pokazali su da primjena antitrombina smanjuje oštećenje EG te smanjuje degradaciju sindekan-1 i heparan sulfata u pokusnim septičnim životinjama (130). Nadalje, Lipowski i suradnici pokazali su da niskomolekularni heparin može inhibirati oštećenje EG i smanjiti adheziju leukocita u muških Wistar štakora (147). Na modelu septičnog šoka, Sun i suradnici pokazali su da primjena kristaloida i antibiotika djelomično smanjuje degradaciju EG, dok dodatna primjena nefrakcioniranog heparina normalizira EG ukazujući na zaštitno ili protuupalno djelovanje heparina i posljedično smanjeno oštećenje EG (148).

Suprotno ranijim studijama, Vanteeffelen i suradnici pokazali su da se heparin nadmeće s komponentom glikokaliksa heparan sulfatom oslobađajući proteine vezane za heparan sulfat uzrokujući poremećaj strukture funkcije EG (149). Intravenska primjena niskomolekularnog heparina povećava enzimsku aktivnost odgovornu za otpuštanje proteina vezanih na EG uz oslobađanje proteina EG u plazmu (150). Uloga heparina u zaštiti i regeneraciji EG ostaje kontroverzna, iako heparin može spriječiti oštećenje EG, no potrebne su dodatne studije (150).

Zaključak

Nedvojbeno je da su endotel i EG središnji supstrati brojnih patofizioloških zbivanja tijekom sepse i septičnog šoka. Endotelna disfunkcija i oštećenje EG patogenima odgovornim za razvoj sepse potiču snažan disregulirani odgovor organizma koji ima za posljedicu poremećaj koagulacije, fibrinolize, povećanu vaskularnu propusnost, aktivaciju imunološkog sustava i smanjeni tonus krvnih žila. Razumijevanje molekularnih mehanizama održavanja entotelne ravnoteže te procesa koji dovode do njegove disfunkcije važno je za bolje i učinkovitije prepoznavanje i liječenje septičnih bolesnika.

INFORMACIJE O SUKOBU INTERESA

Svi autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.

INFORMACIJE O FINANCIRANJU

Ova rad je rezultat projekta uniri-biomed-18-40 1170.

DOPRINOS AUTORA

KONCEPCIJA RADA: BĀC, LB, VS

PISANJE RADA: BĀC, LB, MR, DK, GL, TB, VS

KRITIĀKA REVIZIJA: AŠ, GL, VS.

LITERATURA

- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, i sur. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315:801–10.
- Joffre J, Hellman J, Ince C, Ait-Oufella H. Endothelial Responses in Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2020;202:361–70.
- Ait-Oufella H, Maury E, Lehoux S, Guidet B, Offenstadt G. The endothelium: physiological functions and role in microcirculatory failure during severe sepsis. *Intensive Care Med* 2010;36:1286–98.
- Ostrowski SR, Haase N, Muller RB, Moller MH, Pott FC, Perner A, Johansson PL. Association between biomarkers of endothelial injury and hypocoagulability in patients with severe sepsis: a prospective study. *Crit Care* 2015;19:191.
- Joffre J, Hellman J. Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction in Sepsis and Acute Inflammation. *Antioxid Redox Signal* 2021;35:1291–307.
- Hahn RG, Patel V, Dull RO. Human glycocalyx shedding: Systematic review and critical appraisal. *Acta Anaesthesiol Scand* 2021;65:590–606.
- Jedlicka J, Becker BF, Chappell D. Endothelial Glycocalyx. *Crit Care Clin* 2020;36:217–32.
- Suzuki A, Tomita H, Okada H. Form follows function: The endothelial glycocalyx. *Transl Res* 2022;247:158–67.
- Butler MJ, Down CJ, Foster RR, Satchell SC. The pathological relevance of increased endothelial glycocalyx permeability. *Am J Pathol* 2020;190:742–51.
- Ali MM, Mahmoud AM, Le Master E, Levitan I, Phillips SA. Role of matrix metalloproteinases and histone deacetylase in oxidative stress-induced degradation of endothelial glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2019;316:H647–63.
- Foot CA, Soares RN, Ramirez-Perez FI, Ghiarone T, Aroor A, Manrique-Acevedo C i sur. Endothelial Glycocalyx. *Compr Physiol* 2022;12:3781–811.
- Mahmoud M, Mayer M, Cancel LM, Bartosch AM, Mathews R, Tarbell J. The glycocalyx core protein Glypican 1 protects vessel wall endothelial cells from stiffness-mediated dysfunction and disease. *Cardiovasc Res* 2021;117:1592–1605.
- Dragovich MA, Chester D, Fu BM, Wu C, Xu Y, Goligorsky MS i sur. Mechanotransduction of the endothelial glycocalyx mediates nitric oxide production through activation of TRP channels. *Am J Physiol Cell Physiol* 2016;311:C846–53.
- Krüger-Genge A, Blocki A, Franke RP, Jung F. Vascular Endothelial Cell Biology: An Update. *Int J Mol Sci* 2019;20:4411.
- Pillinger NL, Kam PCA. Endothelial glycocalyx: basic science and clinical implications. *Anesth Intensive Care* 2017;45:295–307.
- Brouns SLN, Provenzale I, van Geffen JP, van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Localized endothelial-based control of platelet aggregation and coagulation under flow: A proof-of-principle vessel-on-a-chip study. *J Thromb Haemost* 2020;18:931–41.
- Tarbell JM, Cancel LM. The glycocalyx and its significance in human medicine. *J Int Med* 2016;280:97–113.
- Lepedda AJ, Nieddu G, Formato M, Baker MB, Fernández-Pérez J, Moroni L. Glycosaminoglycans: From Vascular Physiology to Tissue Engineering Applications. *Front Chem* 2021;9:680836.
- Esko JD, Linhardt RJ. Proteins that bind sulfated glycosaminoglycans. U: Varki A, Cummings RD, Esko JD, Freeze HH, Stanley P, Bertozzi CR, Hart GW, Etzler ME, ur. *Essentials of Glycobiology*, 2. izdanje. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2009.
- Gopal S. Syndecans in Inflammation at a Glance. *Front Immunol* 2020;11:227.
- Zeng Y. Endothelial glycocalyx as a critical signalling platform integrating the extracellular haemodynamic forces and chemical signalling. *J Cell Mol Med* 2017;21:1457–62.
- Gaudette S, Hughes D, Boller M. The endothelial glycocalyx: Structure and function in health and critical illness. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2020;30(2):117–34.
- Xie M, Li J-P. Heparan sulfate proteoglycan – A common receptor for diverse cytokines. *Cell Signal* 2019;54:115–21.
- Pan J, Ho M. Role of glypican-1 in regulating multiple cellular signaling pathways. *Am J Physiol Cell Physiol* 2021;321:C846–58.
- Kincses A, Santa-Maria AR, Walter FR, Der L, Horanyi N, Lipka DV, i sur. A chip device to determine surface charge properties of confluent cell monolayers by measuring streaming potential. *Lab Chip* 2020;20:3792–805.
- Malanovic N, Lohner K. Gram-positive bacterial cell envelopes: The impact on the activity of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta* 2016;1858:936–46.
- Hack CE, Zeerleder S. The endothelium in sepsis: source of and a target for inflammation. *Crit Care Med* 2001;29:S21–S27.
- Dolmatova EV, Wang K, Mandavilli R, Griendling KK. The effects of sepsis on endothelium and clinical implications. *Cardiovasc Res* 2021;117(1):60–73.
- Martinez-Mier G, Toledo-Pereyra LH, Ward PA. Adhesion molecules in liver ischemia and reperfusion. *J Surg Res* 2000;94:185–94.
- Zhong L, Simard MJ, Huot J. Endothelial microRNAs regulating the NF-kappaB pathway and cell adhesion molecules during inflammation. *FASEB J* 2018;32:4070–84.
- Mestas J, Ley K. Monocyte-endothelial cell interactions in the development of atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med* 2008;18:228–32.
- Garton KJ, Gough PJ, Raines EW. Emerging roles for ectodomain shedding in the regulation of inflammatory responses. *J Leukoc Biol* 2006;79:1105–16.
- Kjaergaard AG, Dige A, Nielsen JS, Tonnesen E, Krog J. The use of the soluble adhesion molecules sE-selectin, sICAM-1, sVCAM-1, sPECAM-1 and their ligands CD11a and CD49d as diagnostic and prognostic biomarkers in septic and critically ill non-septic ICU patients. *APMIS* 2016;124:846–55.
- Duman A, Turkdogan KA, Avcil M, Yenisey C, Ture M, Akoz A, i sur. The predictive value of the inflammatory markers P-selectin and MCP1 in determining the length of stay and 30-day survival in the differentiation of sepsis patients. *J Pak Med Assoc* 2018;68:1321–26.
- Vassiliou AG, Mastora Z, Orfanos SE, Jahaj E, Maniatis NA, Koutsoukou A, i sur. Elevated biomarkers of endothelial dysfunction/activation at ICU admission are associated with sepsis development. *Cytokine* 2014;69:240–47.
- Lupu F, Kinasevitz G, Dormer K. The role of endothelial shear stress on haemodynamics, inflammation, coagulation and glycocalyx during sepsis. *J Cell Mol Med* 2020;24(21):12258–71.
- Bombeli T, Mueller M, Haerberli A. Anticoagulant properties of the vascular endothelium. *Thromb Haemost* 1997;77:408–23.
- Levi M, van der Poll T. Coagulation and sepsis. *Thromb Res* 2017;149:39.
- Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, Colucci M. Coagulation pathway of Acute Sepsis. *Semin Thromb Hemost* 2015;41:65058.

40. Ahamed J, Belting M, Ruf W. Regulation of tissue factor-induced signaling by endogenous and recombinant tissue factor pathway inhibitor 1. *Blood* 2005;105:2384–91.
41. van der Poll T. Tissue factor as an initiator of coagulation and inflammation in the lung. *Crit Care* 2008;12(Suppl 6):S3.
42. Kolarova H, Ambruzova B, Svihalkova Sindlerova L, Klinke A, Kubala L. Modulation of endothelial glycocalyx structure under inflammatory conditions. *Mediators Inflamm* 2014; 694312;2014.
43. Levi M, van der Poll T. Disseminated intravascular coagulation: a review for the internist. *Intern Emerg Med* 2013;8: 23–32.
44. Thomas MR, Storey RF. The role of platelets in inflammation. *Thromb Haemost* 2015;114:449–58.
45. Gawaz M, Brand K, Dickfeld T, Pogatsa-Murray G, Page S, Bogner C i sur. Platelets induce alterations of chemotactic and adhesive properties of endothelial cells mediated through an interleukin-1-dependent mechanism. Implications for atherogenesis. *Atherosclerosis* 2000;148:75–85.
46. Kasa A, Csontos C, Verin AD. Cytoskeletal mechanisms regulating vascular endothelial barrier function in response to acute lung injury. *Tissue Barriers* 2015;3:e974448.
47. 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.
48. Kowalczyk AP, Nanes BA. Adherens junction turnover: regulating adhesion through cadherin endocytosis, degradation, and recycling. *Subcell Biochem* 2012;60:197–222.
49. Dejana E, Tournier-Lasserre E, Weinstein BM. The control of vascular integrity by endothelial cell junctions: molecular basis and pathological implications. *Dev Cell* 2009;16:209–21.
50. He Y, Yuan X, Zuo H, Sun Y, Feng A.-Berberine exerts a protective effect on gut-vascular barrier via the modulation of the Wnt/beta-catenin signaling pathway during sepsis. *Cell Physiol Biochem* 2018;49:13421351.
51. Clark PR, Kim RK, Pober JS, Kluger MS Tumor necrosis factor disrupts claudin-5 endothelial tight junction barriers in two distinct NF-kappaB-dependent phases. *PLoS One* 2015;10: e0120075.
52. van der Heijden M, van Nieuw Amerongen GP, Chedamni S, van Hinsbergh VW, Johan Groeneveld AB. The angiotensin-Tie2 system as a therapeutic target in sepsis and acute lung injury. *Expert Opin Ther Targets* 2009;13:39–53.
53. Daly C, Wong V, Burova E, Wei Y, Zabski S, Griffiths J i sur. Angiotensin-1 modulates endothelial cell function and gene expression via the transcription factor FOXO1. *Genes Dev* 2004; 18:1060–71.
54. David S, Mukherjee A, Ghosh CC, Yano M, Khankin EV, Wenger JB i sur. Angiotensin-2 may contribute to multiple organ dysfunction and death in sepsis. *Crit Care Med* 2012; 40:3034–41.
55. Leligdowicz A, Richard-Greenblatt M, Wright J, Crowley VM, Kain KC. Endothelial activation: the Ang/Tie axis in sepsis. *Front Immunol* 2018;9:838.
56. Craigie SM, Kant S, Keaney JF Jr. Reactive oxygen species in endothelial function—from disease to adaptation. *Circ J* 2015;79:1145–55.
57. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995;41:1819–28.
58. Chen Y, Zhou Z, Min W. Mitochondria, oxidative stress and innate immunity. *Front Physiol* 2018;9:1487.
59. Forstermann U, Munzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation* 2006;113:1708–14.
60. Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction and vascular disease. *Verh K Acad Geneesk Belg* 1998;60:251–66.
61. Iba T, Levy JH. Derangement of the endothelial glycocalyx in sepsis. *J Thromb Haemost*. 2019;17(2):283–94.
62. Martin L, Koczera P, Zechendorf E, Schuerholz T. The Endothelial Glycocalyx: New Diagnostic and Therapeutic Approaches in Sepsis. *Biomed Res Int*. 2016;2016:3758278.
63. Mai J, Virtue A, Shen J, Wang H, Yang XF. An evolving new paradigm: endothelial cells--conditional innate immune cells. *J Hematol Oncol*. 2013;6:61.
64. Pons S, Arnaud M, Loiseau M, Arrii E, Azoulay E, Zafrani L. Immune Consequences of Endothelial Cells Activation and Dysfunction During Sepsis. *Crit Care Clin* 2020;36(2): 401–13.
65. Huang JD, Amaral J, Lee JW, Rodriguez IR. 7-Ketocholesterol-induced inflammation signals mostly through the TLR4 receptor both in vitro and in vivo. *PLoS One* 2014;9(7):e100985.
66. Khakpour S, Wilhelmsen K, Hellman J. Vascular endothelial cell Toll-like receptor pathways in sepsis. *Innate Immunol* 2015;21(8):827–46.
67. Wang L, Zhao H, Wang D. Inflammatory cytokine expression in patients with sepsis at an intensive care unit. *Exp Ther Med* 2018;16:2126–31.
68. Larrayoz IM, Huang JD, Lee JW, Pascual I, Rodriguez IR. 7-ketocholesterol-induced inflammation: involvement of multiple kinase signaling pathways via NFkB but independently of reactive oxygen species formation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:4942–55.
69. Dorrington MG, Fraser IDC. NF-κB Signaling in Macrophages: Dynamics, Crosstalk, and Signal Integration. *Front Immunol* 2019;10:705.
70. Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, Sica A, Locati M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *J Pathol* 2013;229:176–85.
71. Wang Y, Abarbanell AM, Herrmann JL, Weil BR, Poynter J, Manukyan MC, Crisostomo PR, Meldrum DR. Toll-like receptor signaling pathways and the evidence linking toll-like receptor signaling to cardiac ischemia/reperfusion injury. *Shock* 2010;34:548–57.
72. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaili SA, Mardani F, i sur. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol*. 2018;233:6425–40.
73. Pober JS, Sessa WC. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat Rev Immunol* 2007;7:803–15.
74. Cambier S, Gouwy M, Proost P. The chemokines CXCL8 and CXCL12: molecular and functional properties, role in disease and efforts towards pharmacological intervention. *Cell Mol Immunol* 2023;20:217–51.
75. Oppenheimer-Marks N, Brezinschek RI, Mohamadzadeh M, Vita R, Lipsky PE. Interleukin 15 is produced by endothelial cells and increases the transendothelial migration of T cells in vitro and in the SCID mouse-human rheumatoid arthritis model In vivo. *J Clin Invest* 1998;101:1261–72.
76. Wang Y, Pan L. Knockdown of CXCL3-inhibited apoptosis and inflammation in lipopolysaccharide-treated BEAS-2B and HPAEC through inactivating MAPKs pathway. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2022;50:10–16.
77. Annunziato F, Cosmi L, Galli G, Beltrame C, Romagnani P, Manetti R i sur. Assessment of chemokine receptor expression by human Th1 and Th2 cells in vitro and in vivo. *J Leukoc Biol* 1999;65:691–9.
78. Hughes CE, Nibbs RJB. A guide to chemokines and their receptors. *FEBS J* 2018;285:2944–71.
79. Brady J, Horie S, Laffey JG. Role of the adaptive immune response in sepsis. *Intensive Care Med Exp* 2020;8:20.
80. Lozanoska-Ochser B, Klein NJ, Huang GC, Alvarez RA, Peakman M. Expression of CD86 on human islet endothelial cells facilitates T cell adhesion and migration. *J Immunol* 2008; 181:6109–16.

81. Satoh S, Suzuki A, Asari Y, Sato M, Kojima N, Sato T *i sur.* Glomerular endothelium exhibits enhanced expression of costimulatory adhesion molecules, CD80 and CD86, by warm ischemia/reperfusion injury in rats. *Lab Invest* 2002; 82(9):1209–17.
82. Seino K, Azuma M, Bashuda H, Fukao K, Yagita H, Okumura K. CD86 (B70/B7-2) on endothelial cells co-stimulates allogeneic CD4+ T cells. *Int Immunol* 1995;7:1331–7.
83. Laskarin G, Rakić M, Sotošek V, Travica Samsa D, Peršić V, Kehler T *i sur.* Immunoregulatory role of circulating endothelial vWF positive cells in patients after acute myocardial infarction. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2021;35:1159–68.
84. Carman CV, Martinelli R. T Lymphocyte-Endothelial Interactions: Emerging Understanding of Trafficking and Antigen-Specific Immunity. *Front Immunol* 2015;6:603.
85. Ma W, Pober JS. Human endothelial cells effectively costimulate cytokine production by, but not differentiation of, naive CD4+ T cells. *J Immunol* 1998;161:2158–67.
86. Ward C, Chilvers ER, Lawson MF, Pryde JG, Fujihara S, Farrow SN *i sur.* NF-kappaB activation is a critical regulator of human granulocyte apoptosis in vitro. *J Biol Chem* 1999; 274:4309–18.
87. Johansen ME. Hemostasis and endothelial damage during sepsis. *Dan Med J* 2015;62(8):B5135.
88. van Hinsbergh VW. Endothelium--role in regulation of coagulation and inflammation. *Semin Immunopathol* 2012;34: 93–106.
89. Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, Gomez H, Kellum JA, Ospina-Tascón GA *i sur.* The endothelium in sepsis. *Shock*. 2016; 45:259–70.
90. Cyr AR, Huckaby LV, Shiva SS, Zuckerbraun BS. Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. *Crit Care Clin* 2020;36:307–21.
91. Chia PY, Teo A, Yeo TW. Overview of the Assessment of Endothelial Function in Humans. *Front Med (Lausanne)* 2020; 7:542567.
92. Cusack R, Leone M, Rodriguez AH, Martin-Loeches I. Endothelial Damage and the Microcirculation in Critical Illness. *Biomedicines* 2022;10:3150.
93. Lee DH, Dane MJC, van den Berg BM, Boels MGS, van Teeffelen JW, de Mutsert R *i sur.* Deeper Penetration of Erythrocytes into the Endothelial Glycocalyx Is Associated with Impaired Microvascular Perfusion. *PLoS ONE* 2014;9:e96477.
94. Eickhoff MK, Winther SA, Hansen TW, Diaz LJ, Persson F, Rossing P, Frimodt-Møller M. Assessment of the Sublingual Microcirculation with the GlycoCheck System: Reproducibility and Examination Conditions. *PLoS ONE* 2020;15: e0243737.
95. Rovas A, Sackarnd J, Rossaint J, Kampmeier S, Pavenstädt H, Vink H, Kümpers P. Identification of Novel Sublingual Parameters to Analyze and Diagnose Microvascular Dysfunction in Sepsis: The NOSTRADAMUS Study. *Crit Care* 2021;25:112.
96. De Backer D, Donadello K, Sakr Y, Ospina-Tascón G, Salgado D, Scolletta S, Vincent JL. Microcirculatory alterations in patients with severe sepsis: impact of time of assessment and relationship with outcome. *Crit Care Med* 2013;41:791–9.
97. Hippensteel JA, Uchimido R, Tyler PD, Burke RC, Han X, Zhang F *i sur.* Intravenous fluid resuscitation is associated with septic endothelial glycocalyx degradation. *Crit Care* 2019;23:259.
98. Doherty M., Buggy D.J. Intraoperative fluids: how much is too much? *Br J Anaesth* 2012;109:69–79.
99. Brandstrup B, Tønnesen H, Beier-Holgersen R, Hjortso E, Ørding H, Lindorff-Larsen K *i sur.* Effects of intravenous fluid restriction on postoperative complications: comparison of two perioperative fluid regimens: a randomized assessor-blinded multicenter trial. *Ann Surg* 2003;238:641–8.
100. Chia PY, Teo A, Yeo T. W. Overview of the Assessment of Endothelial Function in Humans. *Front. Med* 2020;7:542567.
101. Torres LN, Sondeen, JL, Ji L, Dubick M A, Filho IT. Evaluation of resuscitation fluids on endothelial glycocalyx, venular blood flow, and coagulation function after hemorrhagic shock in rats. *J Trauma Acute Care Surg* 2013;75:759–66.
102. Khawar H, Kelley W, Stevens JB, Guzman N. Fresh Frozen Plasma (FFP). In *StatPearls*; StatPearls Publishing, 2021.
103. Jacob M, Rehm M, Loetsch M, Paul JO, Bruegger D, Welsch U, Conzen P, Becker BF. The endothelial glycocalyx prefers albumin for evoking shear stress-induced, nitric oxide-mediated coronary dilatation. *J Vasc Res* 2007;44:435–43.
104. Jacob M, Bruegger D, Rehm M, Stoeckelhuber M, Welsch U, Conzen P, Becker BF. The endothelial glycocalyx affords compatibility of Starling's principle and high cardiac interstitial albumin levels. *Cardiovasc Res* 2007;73:575–86.
105. Zeng Y, Liu XH, Tarbell J, Fu B. Sphingosine 1-phosphate induced synthesis of glycocalyx on endothelial cells. *Exp Cell Res* 2015;339:90–5.
106. 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* 2017;12:e0186116.
107. Adamson RH, Clark JF, Radeva M, Kheirloomoom A, Ferrara KW, Curry FE. Albumin modulates S1P delivery from red blood cells in perfused microvessels: mechanism of the protein effect. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;306: H1011–7.
108. Morrish NJ, Wang SL, Stevens LK, Fuller JH, Keen H. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia* 2001;44: S14–21.
109. Nieuwdorp M, van Haeften TW, Gouverneur MC, Mooij HL, van Lieshout MH, Levi M, *i sur.* Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo. *Diabetes* 2006;55:480–6.
110. Zuurbier CJ, Demirci C, Koeman A, Vink H, Ince C. Short-term hyperglycemia increases endothelial glycocalyx permeability and acutely decreases lineal density of capillaries with flowing red blood cells. *J Appl Physiol* (1985). 2005; 99:1471–6.
111. O'Hora TR, Markos F, Wiernsperger NF, Noble MI. Metformin causes nitric oxide-mediated dilatation in a shorter time than insulin in the iliac artery of the anesthetized pig. *J Cardiovasc Pharmacol* 2012;59:182–7.
112. Cooper S, Teoh H, Campeau MA, Verma S, Leask RL. Empagliflozin restores the integrity of the endothelial glycocalyx in vitro. *Mol Cell Biochem* 2019;459:121–30.
113. 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* 2019;23:260.
114. Eskens BJ, Zuurbier CJ, van Haare J, Vink H, van Teeffelen JW. Effects of two weeks of metformin treatment on whole-body glycocalyx barrier properties in db/db mice. *Cardiovasc Diabetol* 2013;12:175.
115. Paiva CN, Bozza MT. Are reactive oxygen species always detrimental to pathogens? *Antioxid Redox Signal* 2014;20: 1000–37.
116. West AP, Brodsky IE, Rahner C, Woo DK, Erdjument-Bromage H, Tempst P *i sur.* TLR signalling augments macrophage bactericidal activity through mitochondrial ROS. *Nature* 2011;472:476–80.
117. Helmerhorst HJ, SchultzMJ, van der Voort PH, de Jonge E, and van Westerloo DJ. Bench-to-bedside review: the effects of hyperoxia during critical illness. *Crit Care* 2015;19: 284.

118. Calzia E, Asfar P, Hauser B, Matejovic M, Ballestra C, Radermacher P, Georgieff M. Hyperoxia may be beneficial. *Crit Care Med* 2010;38:S559–S568.
119. Hovaguimian F, Lysakowski C, Elia N, Tramer MR. Effect of intraoperative high inspired oxygen fraction on surgical site infection, postoperative nausea and vomiting, and pulmonary function: systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Anesthesiology* 2013;119:303–16.
120. Asfar P, Schortgen F, Boissramé-Helms J, Charpentier J, Guérot E, Megarbane B i sur. Hyperoxia and hypertonic saline in patients with septic shock (HYPER2S): a two-by-two factorial, multicentre, randomised, clinical trial. *Lancet Respir Med* 2017;5:180–90.
121. Kilgannon JH, Jones AE, Shapiro NI, Angelos MG, Milcarek B, Hunter K, i sur. Association between arterial hyperoxia following resuscitation from cardiac arrest and in-hospital mortality. *JAMA* 2010;303:2165–71.
122. Lambden S. Bench to bedside review: therapeutic modulation of nitric oxide in sepsis—an update. *Intensive Care Med* 2019;7:64.
123. Bakker J, Grover R, McLuckie A, Holzapfel L, Andersson J, Lodato R i sur. Administration of the nitric oxide synthase inhibitor NGmethyl-mL-arginine hydrochloride (546C88) by intravenous infusion for up to 72hours can promote the resolution of shock in patients with severe sepsis: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study (study no. 144-002). *Crit Care Med* 2004;32:1–12.
124. Lopez A, Lorente JA, Steingrub J, Bakker J, McLuckie A, Willatts S i sur. Multiple-center, randomized, placebo-controlled, double-blind study of the nitric oxide synthase inhibitor 546C88: effect on survival in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2004;32:21–30.
125. Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. *Crit Care* 2019;23:16.
126. Triantafyllou C, Nikolaou M, Ikonomidis I, Bamias G, Kouretas D, Andreadou I i sur. Effects of Anti-Inflammatory Treatment and Surgical Intervention on Endothelial Glycocalyx, Peripheral and Coronary Microcirculatory Function and Myocardial Deformation in Inflammatory Bowel Disease Patients: A Two-Arms Two-Stage Clinical Trial. *Diagnostics (Basel)* 2021;11:993.
127. Steppan J, Hofer S, Funke B, Brenner T, Henrich M, Martin E i sur. Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalyx. *J Surg Res* 2011;165:136–41.
128. Nelson A, Berkested I, Schmidtchen A, Ljunggren L, Bodelson M. Increased levels of glycosaminoglycans during septic shock: relation to mortality and the antibacterial actions of plasma. *Shock* 2008;30:623–7.
129. Henry CB, Duling BR. TNF-alpha increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279:H2815–23.
130. Chappell D, Hofmann-Kiefer K, Jacob M, Rehm M, Briegel J, Welsch U, i sur. TNF-alpha induced shedding of the endothelial glycocalyx is prevented by hydrocortisone and anti-thrombin. *Basic Res Cardiol* 2009;104:78–89.
131. Nieuwdorp M, Meuwese MC, Mooij HL, van Lieshout MH, Hayden A, Levi M i sur. Tumor necrosis factor-alpha inhibition protects against endotoxin-induced endothelial glycocalyx perturbation. *Atherosclerosis* 2009;202:296–303.
132. Kuhn SO, Meissner K, Mayes LM, Bartels K. Vitamin C in sepsis. *Curr Opin Anaesthesiol* 2018;31:55–60.
133. Victor VV, Guayerbas N, Puerto M, Medina S, De la Fuente M. Ascorbic acid modulates in vitro the function of macrophages from mice with endotoxin shock. *Immunopharmacol* 2000;46:89–101.
134. Armour J, Tynl K, Lidington D, Wilson JX. Ascorbate prevents microvascular dysfunction in the skeletal muscle of the septic rat. *J Appl Physiol* 2001;90:795–803.
135. Marik PE, Khangoora V, Rivera R, Hooper MH, Catravas J. Hydrocortisone, vitamin C, and thiamine for the treatment of severe sepsis and septic shock: a retrospective before-after study. *Chest* 2017;151:1229–38.
136. Fowler AA, 3rd, Truweit JD, Hite RD, Morris PE, DeWilde C, Priday A i sur. Effect of vitamin C infusion on organ failure and biomarkers of inflammation and vascular injury in patients with sepsis and severe acute respiratory failure: the CITRIS-ALI randomized clinical trial. *JAMA* 2019;322:1261–70.
137. Fujii T, LuethiN, Young PJ, FreiDR, EastwoodGM, French CJ i sur. Effect of vitaminC, hydrocortisone, and thiamine vs hydrocortisone alone on time alive and free of vasopressor support among patients with septic shock: the VITAMINS randomized clinical trial. *JAMA* 2020;323:423–31.
138. Crimi E, Liguori A, Condorelli M, Cioffi M, Astuto M, Bon-tempo P i sur. The beneficial effects of antioxidant supplementation in enteral feeding in critically ill patients: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Anesth Analg* 2004;99:857–63.
139. Heyland D, Muscedere J, Wischmeyer PE, Cook D, Jones G, Albert M i sur. A randomized trial of glutamine and antioxidants in critically ill patients. *N Engl J Med* 2013;368:1489–97.
140. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 1989;6:593–7.
141. Huet O, Obata R, Aubron C, Spraul-Davit A, Charpentier J, Laplace C, i sur. Plasma-induced endothelial oxidative stress is related to the severity of septic shock. *Crit Care Med* 2007;35:821–6.
142. Ortolani O, Conti A, De Gaudio AR, Moraldi E, Cantini Q, Novelli G. The effect of glutathione and N-acetylcysteine on lipoperoxidative damage in patients with early septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1907–11.
143. Paterson RL, Galley HF, Webster NR. The effect of N-acetylcysteine on nuclear factor-kappa B activation, interleukin-6, interleukin-8, and intercellular adhesion molecule-1 expression in patients with sepsis. *Crit Care Med* 2003;31:2574–8.
144. Spapen H, Zhang H, Demanet C, Vleminckx W, Vincent JL, Huyghens L. Does N-acetyl-L-cysteine influence cytokine response during early human septic shock? *Chest* 1998;113:1616–24.
145. He Z, Du X, Wu Y, Hua L, Wan L, Yan N. Simvastatin promotes endothelial dysfunction by activating the Wnt/ β -catenin pathway under oxidative stress. *Int J Mol Med* 2019;44:1289–98.
146. Singh RK, Agarwal V, Baronika AK, Kumar S, Poddar B, Azim A. The Effects of Atorvastatin on Inflammatory Responses and Mortality in Septic Shock: A Single-center, Randomized Controlled Trial. *Indian J Crit Care Med* 2017;21:646–54.
147. Lipowsky HH, Lescanic A. Inhibition of inflammation induced shedding of the endothelial glycocalyx with low molecular weight heparin. *Microvasc Res* 2017;112:72–78.
148. Yini S, Heng Z, Xin A, Xiaochun M. Effect of unfractionated heparin on endothelial glycocalyx in a septic shock model. *Acta Anaesthesiol Scand* 2015;59:160–9.
149. VanTeeffelen JW, Brands J, Jansen C, Spaan JA, Vink H. Heparin impairs glycocalyx barrier properties and attenuates shear dependent vasodilation in mice. *Hypertension* 2007;50:261–7.
150. Spiess BD. Heparin: Effects upon the Glycocalyx and Endothelial Cells. *J Extra Corpor Technol* 2017;49:192–7.