

Le glycocalyx : tapis protecteur de l'endothélium

Endothelium protection by the glycocalyx

D. Coquerel · E. Delile · F. Tamion

Reçu le 14 janvier 2013 ; accepté le 15 janvier 2013
© SRLF et Springer-Verlag France 2013

Résumé Le sepsis est la principale cause de mortalité dans les unités de soins intensifs. Dans le processus physiopathologique menant à la défaillance d'organe, l'atteinte endothéliale joue un rôle clé. La dégradation du glycocalyx serait une première étape dans cette atteinte vasculaire. Le glycocalyx est composé de glycoprotéines chargées négativement, découvert en microscopie électronique il y a plus de 40 ans. Le glycocalyx est un déterminant clé de la fonction vasculaire en régulant la perméabilité vasculaire et l'interaction avec les éléments circulants. Au cours du sepsis, le glycocalyx est dégradé et certains de ces composants sont libérés dans la circulation sanguine comme le sulfate d'héparane et le syndécan-1. Néanmoins, son évaluation fonctionnelle et sa visualisation restent complexes à établir à ce jour. La préservation du fonctionnement du glycocalyx pourrait constituer un objectif thérapeutique de prise en charge. Ainsi, le développement de stratégies thérapeutiques permettant de préserver et/ou réparer le glycocalyx pourrait être un des axes de recherche de la prise en charge des patients septiques.

Mots clés Glycocalyx · Sepsis · Perméabilité vasculaire · Physiopathologie · Traitement

Abstract Sepsis is still a major cause of elevated mortality rate in the intensive care unit. Endothelial cell function plays a key role in this pathophysiological process. Recent studies provide evidence that degradation of glycocalyx on the luminal cell membrane is an early step in endothelial dysfunction. The glycocalyx is composed of negatively charged glycoproteins, discovered by electron microscopy more than 40 years ago. The glycocalyx is a key determinant of vascular function regulating vascular permeability and interactions with peri-

pheral blood cells. During sepsis, the glycocalyx may be degraded to various components including heparan sulfate and syndecan-1 that are released into the bloodstream. However, functional assessment and visualization of glycocalyx are still complex to establish. Preservation of glycocalyx could be a future therapeutic target for treatment. Therefore, development of therapeutic strategies to maintain and/or repair the glycocalyx may become a research focus in the management of septic patients.

Keywords Glycocalyx · Sepsis · Vascular permeability · Pathophysiology · Treatment

Introduction

Le sepsis est une cause majeure de mortalité dans les services de réanimation [1–3] où l'atteinte vasculaire est prédominante. Dans cette défaillance vasculaire, l'endothélium va jouer un rôle clé en agissant à la fois sur la vasomotricité, l'interaction avec les éléments figurés du sang et la perméabilité [4,5]. Dans ce rôle complexe, l'endothélium va être suppléé par un véritable « tapis » que représente le glycocalyx. Le glycocalyx, visualisé en microscopie électronique il y a plus de 40 ans par Luft [6], est composé de glycoprotéines chargées négativement. Pourtant, sa composition et sa fonction sont restées confidentielles pendant de nombreuses années. Au cours des dernières décennies, il a été de plus en plus reconnu comme une composante essentielle de la physiologie vasculaire, comme décrit par Pries et al. [4]. Ainsi, une meilleure connaissance des rôles du glycocalyx s'avère un défi supplémentaire pour la prise en charge du sepsis.

Structure du glycocalyx

Le glycocalyx est une membrane riche en hydrates de carbone, connectée à l'endothélium. Il est formé par des composants plasmatiques solubles liés les uns aux autres de façon directe ou via les protéoglycanes et/ou glycosaminoglycanes

D. Coquerel (✉) · E. Delile · F. Tamion
Inserm (Institut national de la santé et de la recherche médicale)
U1096, 22, boulevard Gambetta, F-76000 Rouen, France
e-mail : davidcok1@hotmail.com

F. Tamion
Service de réanimation médicale, CHU de Rouen, France

[7]. Un équilibre existe entre cette couche de composants solubles et les éléments figurés du sang, modulant continuellement la composition et l'épaisseur du glycocalyx. Il existe par ailleurs un équilibre dynamique permanent entre sa biosynthèse et sa dégradation. Sa dégradation dépend de phénomènes enzymatiques d'une part, et du *shear stress* d'autre part. La modification des constituants va affecter les propriétés propres du glycocalyx renforçant le rôle de l'interaction synergétique de tous les constituants. Ainsi, le glycocalyx est une structure dynamique dont les constituants membranaires sont constamment modulés [4]. Les techniques de visualisation directes sont peu sensibles pour analyser ses différents composants, mais démontrent bien qu'il représente un assemblage complexe, menant à un maillage de divers polysaccharides dont la résultante pourrait être imagée en chevelure. La composition du glycocalyx comporte des protéoglycanes, des glycosaminoglycanes, des glycoprotéines et des éléments solubles venus du plasma.

Protéoglycanes

Les protéoglycanes sont les molécules « de base » les plus importantes du glycocalyx constituant la « colonne vertébrale » de cette structure. Composée de protéine core et d'une association de glycosaminoglycanes variant selon les circonstances et les stimuli. Les syndécans et glypicanes en constituent la partie protéique et sont ancrés à la membrane plasmique par un domaine transmembranaire (syndécans) ou par ancrage aux phospholipides membranaire (glypicanes).

Les glycosaminoglycanes sont au nombre de cinq : héparane sulfate, chondroïtine sulfate, dermatane sulfate, kératane sulfate, hyaluronane (= acide hyaluronique) [8–11]. Ce sont des polymères linéaires de disaccharides de longueur variable, pouvant être modifiés par sulfatations et acétylation. Au niveau vasculaire, l'héparane sulfate et le chondroïtine sulfate sont les deux glycosaminoglycanes les plus exprimés par les cellules endothéliales. L'acide hyaluronique est une longue molécule polymérique jusqu'à 104 kDa. Par rapport aux autres glycosaminoglycanes, il n'est pas lié à une protéine core, alors que son lien exact avec la membrane est mal connu. Il peut être attaché via le CD44 ou par ses protéines de synthèses, les hyaluronanes-synthases, situées sur le versant cytosolique de la membrane. Une autre possibilité est que l'acide hyaluronique soit en partie non attaché à la membrane plasmique. De par sa synthèse cytosolique, il ne peut pas subir les modifications dites posttraductionnelles acquises par les autres protéoglycanes au niveau du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi. Par ailleurs, des protéines fixant l'acide hyaluronique existent dans le cytosol et font évoquer un rôle intracellulaire inconnu de cette molécule. Comme les glycosaminoglycanes contiennent de nombreux sites de liaison spécifiques pour les protéines plasmatiques, de simples modifications peuvent

avoir des conséquences fonctionnelles majeures. De plus, il existe une grande plasticité de ces motifs (O-sulfatation et N-sulfatation) au cours du temps et sous différents stimuli physio(patho)logiques [12,13]. Ainsi, la modification de l'épaisseur, de la charge et de la structure des protéines du glycocalyx vont avoir des conséquences directes sur l'interaction avec les éléments figurés du sang et la perméabilité vasculaire.

Glycoprotéines

En plus des protéoglycanes avec leurs longues chaînes, certaines glycoprotéines sont aussi considérées comme des molécules « de base » connectant le glycocalyx à la membrane cellulaire endothéliale. Ce groupe de glycoprotéines est caractérisé par des chaînes de 2 à 15 résidus osidiques. Les trois familles de molécules d'adhésion cellulaire présentes dans le glycocalyx sont les sélectines, les intégrines et les immunoglobulines. Elles jouent un rôle majeur dans le recrutement cellulaire et dans la signalisation cellulaire.

Glycoprotéines de la famille des sélectines

Les sélectines présentes au niveau de l'endothélium sont les E-sélectines et les P-sélectines, toutes deux impliquées dans les interactions leucocyte/cellule endothéliale [14]. Les P-sélectines sont constitutivement produites et stockées dans les corps de Weibel-Palade. Une exocytose rapide de ces corps induite par des stimuli comme la thrombine ou l'histamine permet la translocation de la P-sélectine à la surface cellulaire [15]. Un processus d'internalisation rapide explique une demi-vie d'activité courte. La E-sélectine, par opposition, n'est pas stockée dans des granules et nécessite quelques heures entre deux–six heures puisque nécessitant une synthèse protéique de novo à partir d'ARN. Des médiateurs pro-inflammatoires, comme le *tumor necrosis factor* (TNF)- α , l'IL-1 β et le LPS, augmentent l'expression de E-sélectine à la surface endothéliale [15,16].

Famille des intégrines

Les intégrines sont des molécules hétérodimériques avec un domaine cytoplasmique et un domaine transmembranaire. Chaque intégrine est caractérisée par une association différente de sous-unités alpha et bêta [17]. Les intégrines sont retrouvées au niveau des cellules endothéliales, des leucocytes et des plaquettes et peuvent par ailleurs avoir des interactions avec la laminine, la fibronectine et le collagène. Elles sont ainsi impliquées dans les interactions cellules/cellules et cellules/matrice extracellulaire et sont capables d'initier un signal de transduction grâce à leur domaine cytoplasmique.

Immunoglobulines

La superfamille des glycoprotéines dites « immunoglobulines » est caractérisée par une queue cytoplasmique, un domaine transmembranaire et un nombre variable de domaines de type immunoglobulines. Les exemples les mieux connus sont la molécule d'adhésion intercellulaire-1 et -2 (ICAM-1 et-2), la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1 (VCAM-1) et la molécule d'adhésion cellulaire plaquette/endothélium-1 (PECAM-1). Ces immunoglobulines servent de ligands aux intégrines situées sur les leucocytes et les plaquettes permettant la fixation de ces éléments figurés à l'endothélium. Ce phénomène permet alors la séquence de roulement, d'adhésion et de diapédèse. ICAM-1, ICAM-2 et PECAM-1 ont une expression basale alors que VCAM-1 est seulement présente après stimulation cellulaire par les cytokines. En plus d'héberger ces molécules d'adhésion cellulaire, le glycocalyx abrite des glycoprotéines impliquées dans la coagulation, la fibrinolyse et l'hémostase. Le complexe glycoprotéique Ib-IX-V est exprimé sur les cellules endothéliales et les plaquettes. Ce complexe se lie au facteur von Willebrand (vWf) connu initialement comme le récepteur plaquettaire au vWf. De plus, ce complexe se fixe aussi aux P-sélectines, servant l'interaction plaquettes/cellules endothéliales activées [18]. Tout comme les plaquettes, les cellules endothéliales expriment tous les composants de ce complexe Ib-IX-V qui d'un côté fixe le substrat du vWf au sous-endothélium, et de l'autre le vWf issu des corps de Weibel-Palade sécrété dans la lumière par les cellules endothéliales activées [19].

Composants solubles

Les composés solubles se retrouvent enchâssés dans les mailles du glycocalyx et dérivent soit de l'endothélium, soit du flux sanguin. Parmi ces composés, l'albumine et l'orosomucoïde contribuent à la sélectivité de la barrière de perméabilité en apportant des charges négatives [20]. Certains des composants solubles peuvent contribuer à l'organisation structurelle du glycocalyx en renforçant les interactions entre les différentes structures créant un véritable maillage et fournissent un peu de stabilité au glycocalyx. Étant une très grande molécule linéaire, l'acide hyaluronique pourrait jouer un rôle important à cet égard [21,22]. Cependant, le glycocalyx est une couche fragile et le déplacement d'un composant spécifique peut aboutir à la perte de sa fonction [23].

Évaluation du glycocalyx

Un des écueils de la visualisation directe du glycocalyx est son importante fragilité, notamment lors de la manipulation des vaisseaux. Des protocoles de plus en plus sophistiqués

sont utilisés pour visualiser le glycocalyx en microscopie électronique afin de sous-estimer de moins en moins son épaisseur [24,25]. Vink et Duling ont utilisé pour la première fois en 1996 des mesures indirectes en microscopie intravital sur des capillaires de muscle crémaster de hamster [26]. La soustraction du diamètre de la colonne de plasma du diamètre interne anatomique a révélé les dimensions du glycocalyx, semblant être de 0,4–0,5 μm d'épaisseur [26]. L'autre méthode utilisée par microscopie orthogonale par polarisation spectrale (OPS) en sublingual consiste à estimer l'épaisseur du glycocalyx entre la colonne de globules rouges à l'état basal (diamètre fonctionnel) et la colonne après passage de leucocytes (diamètre anatomique). Des approches de visualisation directe du glycocalyx par marquage ont été faites soit par des lectines qui vont se fixer aux parties disaccharidiques des glycosaminoglycanes [27,28], soit par des anticorps dirigés contre l'héparane sulfate, le syndécane-1 ou l'acide hyaluronique [27]. Ces techniques ont révélé sur des cultures de cellules endothéliales humaines de veines ombilicales (HUVEC) une épaisseur de glycocalyx de 2,5 μm . Une autre technique prometteuse est la microscopie laser biphotonique (TPLSM) permettant une visualisation du glycocalyx dans des vaisseaux plus larges et notamment in vivo [29]. En raison de l'importance fonctionnelle du glycocalyx, le développement de techniques de visualisation directe est crucial pour établir au mieux son rôle dans la pathologie vasculaire. L'absence de techniques fiables et facilement utilisables rend aujourd'hui son évaluation fonctionnelle très difficile en dehors de projets de recherche.

Fonctions du glycocalyx

Rôle dans la perméabilité vasculaire

Le glycocalyx est un déterminant clé de la perméabilité vasculaire en régulant, grâce à ses propriétés, l'accès de certaines molécules à la membrane vasculaire [30–32]. La perte de cette fonction induit la formation d'œdème interstitiel, et cela, malgré la présence d'une barrière endothéliale intacte. Les charges ioniques négatives du glycocalyx sont apportées par les résidus sulfates très nombreux sur les glycosaminoglycanes. En culture cellulaire, si on neutralise les charges ioniques du glycocalyx, la captation de l'albumine par les cellules endothéliales augmente avec une perméabilité accrue pour ces molécules [33].

Ainsi, la loi de Starling sur les échanges capillaires a été revue par la découverte du glycocalyx. Le modèle classique définit le taux de filtration à travers la membrane capillaire comme la résultante des pressions hydrostatiques et oncotiques de part et d'autre de la membrane [34]. La découverte du glycocalyx et son influence sur l'endothélium ont mené à une révision de la loi de Starling par Weinbaum [35] et

Michel [36], qui ont proposé d'appliquer les gradients de pression uniquement au glycocalyx.

Ainsi, l'importance du glycocalyx dans l'extravasation des solutés de remplissage a été mise en évidence par les nombreux travaux de Rehm et al. et d'autres [37,38]. Ces travaux se sont intéressés aux conséquences de la dégradation du glycocalyx sur les mouvements des fluides en utilisant un modèle expérimental de cœur isolé perfusé. L'infusion d'une solution d'albumine à 5 % ou d'hydroxyéthyl d'amidon à 6 % (colloïde naturel ou artificiel) limitent significativement l'extravasation de fluide. Cependant, après 20 minutes d'ischémie, seule l'infusion d'albumine réduit la fuite vasculaire vers le secteur interstitiel. Cela souligne l'importance de la structure du glycocalyx, de son intégrité et surtout le rôle des protéines plasmatiques dans son fonctionnement. La présence de charges négatives, définie entre autres par l'acide hyaluronique, semble agir comme un filtre moléculaire pour les fluides et les protéines plasmatiques, ce qui augmente la pression oncotique et prévient la fuite vers l'interstitium. En résumé, la fuite transcapillaire semble être limitée par un gradient de pression oncotique au niveau du glycocalyx, et non sur l'ensemble de la paroi anatomique des vaisseaux.

Rôle de méchanotransmetteurs

L'endothélium est exposé aux forces mécaniques induites par le flux sanguin qui déterminent sa morphologie et sa fonctionnalité [39,40]. Des cellules endothéliales exposées à un *shear stress* produisent du monoxyde d'azote (NO) [41], molécule radicalaire essentielle au bon fonctionnement vasculaire. Les éléments responsables de la transduction des signaux biomécaniques (forces de cisaillement, *shear stress*) en signaux biochimiques (synthèse de NO) sont encore inconnus. Cependant, le glycocalyx est un candidat de choix pour expliquer ce phénomène. Un traitement par héparinase (héparane sulfate) ou par hyaluronidase (acide hyaluronique) diminue la production flux-dépendante de NO [27,42]. De plus, un rétrocontrôle positif semble exister puisque l'exposition de HUVEC à un *shear stress* double l'incorporation d'acide hyaluronique dans le glycocalyx [43].

Ces études impliquent les différents composants du glycocalyx dans le phénomène de méchanotransduction couplant le *shear stress* à la production endothéliale de NO. Cette idée est confirmée par des modèles théoriques basés sur une distribution hexagonale régulière des protéines principales sur la membrane cellulaire endothéliale [44]. Récemment, Tarbell et Pahakis ont conclu que les principales protéines du glycocalyx sont responsables de la transmission des signaux du *shear stress*, permettant la production de NO et la réorganisation du cytosquelette [45]. Dans ce même temps, ce signal mécanique serait transmis à d'autres régions de la cellule endothéliale, comme les jonctions intercellulai-

res et les plaques d'adhésion basale, capables de détecter le *shear stress* même en l'absence de glycocalyx.

Interaction avec les éléments figurés du sang

À côté de ces différentes fonctions, le glycocalyx joue un rôle clé dans l'interaction de l'endothélium avec les éléments figurés du sang, notamment via son effet répulsif sur les globules rouges. En effet, le glycocalyx repousse les hématies de façon centripète. Cela est observable in vivo en observant une zone d'exclusion des globules rouges au niveau de l'endothélium, qui disparaît si on détruit le glycocalyx [46]. Les plaquettes sont aussi « rejetées » par l'endothélium ; et si on dégrade le glycocalyx, on augmente les interactions entre plaquettes et endothélium [47]. Les interactions avec les leucocytes sont plus nuancées. Dans les conditions normales, il semble que le glycocalyx dissimule les molécules d'adhésion leucocytaire [48]. Quand des stimuli appropriés dégradent le glycocalyx ou du moins desserrent ses mailles, comme des enzymes glycolytiques, les cytokines ou encore l'ischémie-reperfusion, les molécules d'adhésion sont découvertes permettant l'interaction entre les leucocytes et l'endothélium [48,49].

Autres propriétés vasoprotectrices du glycocalyx

La présence du glycocalyx a d'importantes conséquences pour la rhéologie, particulièrement au niveau capillaire. Dans cette partie de la circulation, la viscosité du sang local et l'hématocrite semblent être modulés par le glycocalyx. Plusieurs médiateurs anticoagulants peuvent se lier au glycocalyx, comme l'antithrombine III, l'héparine cofacteur II, la thrombomoduline et l'inhibiteur du facteur tissulaire (TFPI). L'antithrombine III est un puissant inhibiteur d'enzymes procoagulantes comme la thrombine et des facteurs activés comme le Xa et IXa [50]. Sa fixation aux héparanes sulfates majore son activité anticoagulante [51]. L'héparine cofacteur II est un inhibiteur de protéase thrombine spécifique [52], qui est activé par sa fixation aux dermatanes sulfates présents dans le glycocalyx [53]. Le TFPI est un inhibiteur des facteurs VII et X activés. Aussi, la consommation et la dégradation du complexe TFPI-Xa dépendent en partie des héparanes sulfates du glycocalyx [54]. Toutes ces molécules anticoagulantes présentes au sein du glycocalyx contribuent au caractère thromborésistant de l'endothélium sain.

Le glycocalyx permet de limiter le processus inflammatoire systémique en fixant d'une part les cytokines circulantes et d'autre part en limitant leur liaison à leur récepteur membranaire endothélial par les cytokines circulantes [55]. Un autre aspect du rôle vasoprotecteur du glycocalyx est sa capacité à capter et transformer les espèces radicalaires. Propriété conférée par la présence au sein de son réseau d'une superoxyde-dismutase (SOD) extracellulaire produite par la

cellule endothéliale [56]. Cet effet permet de réduire le stress oxydatif au niveau vasculaire, d'assurer la biodisponibilité du NO et de limiter la dysfonction endothéliale en limitant la production de peroxy-nitrite. Le glycocalyx est aussi impliqué dans le métabolisme lipidique en fixant la lipoprotéine lipase et son substrat, les lipoprotéines de faible densité (LDL), ainsi que dans la modulation du processus angiogénique par la fixation de facteurs de croissance tels que le *fibroblast growth factor* (FGF) ou le *vascular endothelial growth factor* (VEGF) qui sont libérés, par sa dégradation, en cas d'hypoxie.

En définitive, le glycocalyx est une membrane active intégrant des molécules plasmiques et recouvrant l'endothélium. Il exerce de multiples fonctions essentielles à la structure vasculaire saine comme pathologique. Son rôle vasoprotecteur a été bien démontré expérimentalement au niveau de la microcirculation et plus récemment de la macrocirculation, mais les difficultés de son évaluation rendent les recherches humaines complexes. Au cours de ces dernières années, il est apparu un rôle majeur du glycocalyx dans la pathologie vasculaire notamment au cours du sepsis.

Glycocalyx et sepsis

Au cours du sepsis, le glycocalyx est dégradé et certains de ces composants sont libérés dans la circulation sanguine [57]. Chez des patients en choc septique, on observe une augmentation des concentrations plasmatiques de glycosaminoglycane, et ce, de façon plus importante chez les non-survivants [58]. Preuve d'une atteinte de la microcirculation et de la perte de fonction de la barrière endothéliale, la détection plasmatique de certains composants du glycocalyx est donc un reflet indirect de l'atteinte vasculaire pouvant être utilisé pour diagnostiquer la sévérité du syndrome septique. De plus, ces composés relargués dans la circulation possèdent des propriétés biologiques importantes modulant le syndrome inflammatoire. Ainsi, l'héparane sulfate libre contribue au recrutement des leucocytes circulants via un effet chémoattractant, agissant ainsi en feed-back positif dans leur recrutement au site de l'infection [59].

De la même manière, l'ischémie-reperfusion et l'hyperglycémie peuvent entraîner une dégradation du glycocalyx. Tous ces processus physiopathologiques s'accompagnent d'une hyperperméabilité vasculaire orchestrée par l'ouverture des systèmes paracellulaires et l'altération des jonctions serrées. De nombreux médiateurs de l'inflammation sont directement capables d'induire cette perméabilité vasculaire : le TNF- α , la bradykinine, la thrombine, le VEGF et l'histamine ont démontré un effet direct sur l'intégrité endothéliale [60–63]. Cependant, le glycocalyx participant directement à la régulation des échanges liquidiens entre les tissus, son altération est l'une des causes de l'augmentation de

perméabilité vasculaire observée dans ces états pathologiques. En effet, la présence d'endotoxine ou de cytokines comme le TNF- α réduit l'épaisseur du glycocalyx favorisant l'infiltration de la paroi vasculaire [64,65]. Pendant l'inflammation, le glycocalyx agit comme récepteur des cytokines circulantes conduisant à un réarrangement en forme de grappe des composés syndécane [66]. Ces derniers vont transmettre des signaux extracellulaires à des effecteurs cytosoliques, comme les filaments d'actine [67]. Cette interrelation crée une contraction des filaments d'actine modulant le fonctionnement des systèmes de jonction intercellulaires à l'origine de l'extravasation de liquide [66]. Ainsi, le glycocalyx intervient dans l'hyperperméabilité vasculaire par différents mécanismes au cours du sepsis.

Des études expérimentales, menées dans un modèle d'ischémie/reperfusion d'artère de muscle crémaster de souris, montrent une diminution de la zone d'exclusion plasmique colorée au FITC dextran après ischémie et que cette atteinte est limitée par l'administration exogène de SOD. Cette étude démontre un lien entre la production de molécules radicalaires et la désorganisation de glycocalyx passant notamment par une oxydation de l'acide hyaluronique et donc une désorganisation de la structure du glycocalyx [68–70]. Dans l'étude de Steppan et al. [57], les auteurs ont comparé l'atteinte du glycocalyx dans la population de patients septiques et postopératoires. Chez ces deux populations de patients, les concentrations plasmatiques de syndécane-1 et d'héparane sulfate étaient significativement plus élevées comparativement à la population témoin, avec des concentrations plasmatiques d'héparane sulfate plus élevées chez les patients en postopératoire comparativement aux patients septiques et inversement pour les concentrations de syndécane-1, plus fortes chez les patients septiques. Cependant, aucune corrélation avec le pronostic vital n'a été établie. La présence de concentrations de syndécane-1 plus élevées chez les patients septiques était un argument pour évoquer une altération plus sévère du glycocalyx dans ce contexte. Des études expérimentales ont montré un rôle majeur du syndécane-1 dans la régulation du processus inflammatoire. Dans un modèle de sepsis murin, son clivage permettait l'excrétion de certaines chémokines entraînant une diminution du recrutement de polynucléaires neutrophiles [71]. Cependant, dans un modèle de brûlure thermique expérimentale, le clivage du syndécane-1 favorisait la diffusion de l'infection à *Pseudomonas aeruginosa* via une augmentation de la perméabilité vasculaire [72]. À l'inverse, on retrouvait des effets bénéfiques du clivage du syndécane-1 dans le contexte d'infection à bacille Gram positif [73].

L'autre conséquence majeure de la perte du glycocalyx est l'instauration d'une hyperperméabilité avec passage de grande quantité de liquides dans le secteur interstitiel jusqu'à 3 à 6 l pour certaines pathologies nécessitant de grandes quantités de remplissage vasculaire [74–78]. Des travaux

ont mis en évidence un effet délétère de cette extravasation sur le fonctionnement cellulaire [3]. Néanmoins, il n'existe à ce jour aucune méthode fiable permettant d'évaluer ces extravasations de liquides afin d'optimiser au mieux le remplissage vasculaire de ces patients. L'administration de solutions cristalloïdes se répartit à plus de 80 % dans le secteur interstitiel, y compris en présence d'une structure de glycocalyx normale et d'une perméabilité vasculaire saine [79]. Cette répartition est majorée en présence d'une altération du glycocalyx expliquant les quantités majeures de cristalloïdes à perfuser pour stabiliser l'état hémodynamique des patients septiques. Les solutions de type colloïde se distribuent également dans le secteur interstitiel en cas d'altération endothéliale [80]. En plus, il a été démontré récemment des effets délétères sur la fonction rénale et le pronostic des patients avec l'utilisation de certains de ces colloïdes. Il apparaît essentiel dans ces conditions d'ajuster au mieux la prise en charge du remplissage vasculaire en prenant en compte l'altération de la paroi vasculaire et les conséquences sur les mouvements de liquides. Dans cet ajustement, l'évaluation de la fonction du glycocalyx pourrait être un objectif.

Conclusion

Le glycocalyx est une structure dynamique recouvrant l'endothélium, véritable film protecteur de ce dernier. Le glycocalyx s'étend dans la lumière vasculaire, et ces dimensions sont déterminées par une balance dynamique entre biosynthèse, environnement et dégradation enzymatique de certains composés. Cette structure est responsable du mouvement des fluides au travers la membrane vasculaire, de l'interaction avec les protéines plasmatiques et de la vasomotricité. Sa composition notamment via la présence de charges négatives retient les composés plasmatiques comme les liquides ou les protéines dans la lumière vasculaire et régule par ce principe en permanence la perméabilité vasculaire. De ce fait, le glycocalyx va jouer un rôle clé dans l'hyperperméabilité vasculaire observé lors du sepsis. Son évaluation fonctionnelle reste aujourd'hui du domaine de la recherche. Néanmoins, le développement de stratégies thérapeutiques permettant de préserver ou de réparer le glycocalyx pourrait être un des axes de recherche de la prise en charge de patients septiques.

Conflit d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

- Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al (2008) Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med* 36:296–327
- Friedman G, Silva E, Vincent JL (1998) Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit Care Med* 26:2078–86
- Spronk PE, Zandstra DF, Ince C (2004) Bench-to bedside review: sepsis is a disease of the microcirculation. *Crit Care* 8:462–8
- Pries AR, Secomb TW, Gaetgens P (2000) The endothelial surface layer. *Pflugers Archiv: Eur J Physiol* 440:653–66
- Michel CC, Curry FE (1999) Microvascular permeability. *Physiol Rev* 79:703–61
- Luft JH (1966) Fine structures of capillary and endocapillary layer as revealed by ruthenium red. *Federation Proc* 25:1773–83
- Lipowsky HH (2005) Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation* 12:5–15
- Carey DJ (1997) Syndecans: multifunctional cell-surface co-receptors. *Biochem J* 327:1–16
- Fransson LA, Belting M, Cheng F, et al (2004) Novel aspects of glypican glycobiochemistry. *Cell Mol Life Sci: CMLS* 61:1016–24
- Iozzo RV (1994) Perlecan: a gem of a proteoglycan. *Matrix Biol* 14:203–8
- Kinsella MG, Bressler SL, Wight TN (2004) The regulated synthesis of versican, decorin, and biglycan: extracellular matrix proteoglycans that influence cellular phenotype. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 14:203–34
- Vogl-Willis CA, Edwards IJ (2004) High-glucose-induced structural changes in the heparan sulfate proteoglycan, perlecan, of cultured human aortic endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 1672:36–45
- Ballinger ML, Nigro J, Frontanilla KV, et al (2004) Regulation of glycosaminoglycan structure and atherogenesis. *Cell Mol Life Sci: CMLS* 61:1296–306
- Sperandio M (2006) Selectins and glycosyltransferases in leukocyte rolling in vivo. *FEBS J* 273:4377–89
- Dole VS, Bergmeier W, Mitchell HA, et al (2005) Activated platelets induce Weibel-Palade-body secretion and leukocyte rolling in vivo: role of P-selectin. *Blood* 106:2334–9
- Koedam JA, Cramer EM, Briend E, et al (1992) P-selectin, a granule membrane protein of platelets and endothelial cells, follows the regulated secretory pathway in AtT-20 cells. *J Cell Biol* 116:617–25
- Xiong JP, Stehle T, Goodman SL, Arnaout MA (2003) Integrins, cations and ligands: making the connection. *J thromb haemost: JTH* 1:1642–54
- Berndt MC, Shen Y, Doppeide SM, et al (2001) The vascular biology of the glycoprotein Ib-IX-V complex. *Thromb Haemost* 86:178–88
- Wu G, Essex DW, Meloni FJ, et al (1997) Human endothelial cells in culture and in vivo express on their surface all four components of the glycoprotein Ib/IX/V complex. *Blood* 90:2660–9
- Huxley VH, Curry FE (1991) Differential actions of albumin and plasma on capillary solute permeability. *Am J Physiol* 260: H1645–H54
- Scott JE, Heatley F (1999) Hyaluronan forms specific stable tertiary structures in aqueous solution: a ¹³C NMR study. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:4850–5
- Scott JE, Thomlinson AM, Prehm P (2003) Supramolecular organization in streptococcal pericellular capsules is based on hyaluronan tertiary structures. *Exp Cell Res* 285:1–8
- Tarbell JM, Weinbaum S, Kamm RD (2005) Cellular fluid mechanics and mechanotransduction. *Ann Biomed Eng* 33:1719–23
- Rostgaard J, Qvortrup K (1997) Electron microscopic demonstrations of filamentous molecular sieve plugs in capillary fenestrae. *Microvasc Res* 53:1–13
- Rostgaard J, Qvortrup K (2002) Sieve plugs in fenestrae of glomerular capillaries: site of the filtration barrier? *Cells Tissues Organs* 170:132–8

26. Vink H, Duling BR (1996) Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leukocytes within mammalian capillaries. *Circ Res* 79:581–9
27. Florian JA, Kosky JR, Ainslie K, et al (2003) Heparan sulfate proteoglycan is a mechanosensor on endothelial cells. *Circ Res* 93:e136–e42
28. Mulivor AW, Lipowsky HH (2004) Inflammation- and ischemia-induced shedding of venular glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286:H1672–H80
29. Megens RT, Reitsma S, Schiffers PH, et al (2007) Two-photon microscopy of vital murine elastic and muscular arteries. Combined structural and functional imaging with subcellular resolution. *J Vasc Res* 44:87–98
30. Henry CB, Duling BR (1999) Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. *Am J Physiol* 277:H508–H14
31. Vink H, Duling BR (2000) Capillary endothelial surface layer selectively reduces plasma solute distribution volume. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278:H285–H9
32. Van Haaren PM, Van Bavel E, Vink H, Spaan JA (2003) Localization of the permeability barrier to solutes in isolated arteries by confocal microscopy. *Am J Physiol. Heart Circ Physiol* 285:H2848–H56
33. Ueda A, Shimomura M, Ikeda M, et al (2004) Effect of glycocalyx on shear-dependent albumin uptake in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287:H2287–H94
34. Starling EH (1896) On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. *J Physiol* 19:312–26
35. Weinbaum S (1998) 1997 Whitaker distinguished lecture: models to solve mysteries in biomechanics at the cellular level; a new view of fiber matrix layers. *Ann Biomed Eng* 26:627–43
36. Michel CC (1997) Starling: the formulation of his hypothesis of microvascular fluid exchange and its significance after 100 years. *Exp Physiol* 82:1–30
37. Rehm M, Zahler S, Lotsch M, et al (2004) Endothelial glycocalyx as an additional barrier determining extravasation of 6% hydroxyethyl starch or 5% albumin solutions in the coronary vascular bed. *Anesthesiology* 100:1211–23
38. Jacob M, Bruegger D, Rehm M, et al (2006) Contrasting effects of colloid and crystalloid resuscitation fluids on cardiac vascular permeability. *Anesthesiology* 104:1223–31
39. Davies PF (1995) Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev* 75:519–60
40. Dewey CF Jr., Bussolari SR, Gimbrone MA Jr., Davies PF (1981) The dynamic response of vascular endothelial cells to fluid shear stress. *J Biomech Eng* 103:177–85
41. Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM (1986) Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 250:H1145–H9
42. Mochizuki S, Vink H, Hiramatsu O, et al (2003) Role of hyaluronic acid glycosaminoglycans in shear-induced endothelium-derived nitric oxide release. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285:H722–H6
43. Gouverneur M, Spaan JA, Pannekoek H, et al (2006) Fluid shear stress stimulates incorporation of hyaluronan into endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290:H458–H2
44. Weinbaum S, Zhang X, Han Y, et al (2003) Mechanotransduction and flow across the endothelial glycocalyx. *Proc Natl Acad Sc U S A* 100:7988–95
45. Tarbell JM, Pahakis MY (2006) Mechanotransduction and the glycocalyx. *J Intern Med* 259:339–50
46. Lipowsky HH, Kovalcheck S, Zweifach BW (1978) The distribution of blood rheological parameters in the microvasculature of cat mesentery. *Circ Res* 43:738–49
47. Vink H, Constantinescu AA, Spaan JA (2000) Oxidized lipoproteins degrade the endothelial surface layer : implications for platelet-endothelial cell adhesion. *Circulation* 101:1500–2
48. Constantinescu AA, Vink H, Spaan JA (2003) Endothelial cell glycocalyx modulates immobilization of leukocytes at the endothelial surface. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:1541–7
49. Henry CB, Duling BR (2000) TNF-alpha increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279:H2815–H23
50. Quinsey NS, Greedy AL, Bottomley SP, et al (2004) Antithrombin: in control of coagulation. *Int J Biochem Cell Biol* 36:386–9
51. Shimada K, Kobayashi M, Kimura S, et al (1991) Anticoagulant heparin-like glycosaminoglycans on endothelial cell surface. *Jpn Circ J* 55:1016–21
52. Parker KA, Tollefsen DM (1985) The protease specificity of heparin cofactor II. Inhibition of thrombin generated during coagulation. *J Biol Chem* 260:3501–5
53. Tovar AM, de Mattos DA, Stelling MP, et al (2005) Dermatan sulfate is the predominant antithrombotic glycosaminoglycan in vessel walls: implications for a possible physiological function of heparin cofactor II. *Biochim Biophys Acta* 1740:45–53
54. Weiler H, Isermann BH (2003) Thrombomodulin. *J Thromb Haemost: JTH* 1:1515–24
55. Bode L, Eklund EA, Murch S, Freeze HH (2005) Heparan sulfate depletion amplifies TNF-alpha-induced protein leakage in an in vitro model of protein-losing enteropathy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288:G1015–G23
56. Li Q, Bolli R, Qiu Y, et al (1998) Gene therapy with extracellular superoxide dismutase attenuates myocardial stunning in conscious rabbits. *Circulation* 98:1438–48
57. Stepan J, Hofer S, Funke B, et al (2011) Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalyx. *J Surg Res* 165:136–41
58. Nelson A, Berkested I, Schmidtchen A, et al (2008) Increased levels of glycosaminoglycans during septic shock: relation to mortality and the antibacterial actions of plasma. *Shock* 30:623–7
59. Li JP, Vlodavsky I (2009) Heparin, heparan sulfate and heparanase in inflammatory reactions. *Thromb Haemost* 102:823–8
60. Andriopoulou P, Navarro P, Zanetti A, et al (1999) Histamine induces tyrosine phosphorylation of endothelial cell-to-cell adherens junctions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:2286–97
61. Aschner JL, Lum H, Fletcher PW, Malik AB (1997) Bradykinin- and thrombin-induced increases in endothelial permeability occur independently of phospholipase C but require protein kinase C activation. *J Cell Physiol* 173:387–96
62. Hippenstiel S, Krull M, Ikemann A, et al (1998) VEGF induces hyperpermeability by a direct action on endothelial cells. *Am J Physiol* 274:L678–L84
63. Rotundo RF, Curtis TM, Shah MD, et al (2002) TNF-alpha disruption of lung endothelial integrity: reduced integrin mediated adhesion to fibronectin. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 282:L316–L29
64. Chappell D, Hofmann-Kiefer K, Jacob M, et al (2009) TNF-alpha induced shedding of the endothelial glycocalyx is prevented by hydrocortisone and antithrombin. *Basic Res Cardiol* 104:78–89
65. Marechal X, Favory R, Joulin O, et al (2008) Endothelial glycocalyx damage during endotoxemia coincides with microcirculatory dysfunction and vascular oxidative stress. *Shock* 29:572–6
66. Dull RO, Dinavahi R, Schwartz L, et al (2003) Lung endothelial heparan sulfates mediate cationic peptide-induced barrier dysfunction: a new role for the glycocalyx. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 285:L986–L95
67. Zimmermann P, David G (1999) The syndecans, tuners of transmembrane signaling. *FASEB J* 13(Suppl):S91–S100
68. Moseley R, Leaver M, Walker M, et al (2002) Comparison of the antioxidant properties of HYAFF-11p75, AQUACEL and

- hyaluronan towards reactive oxygen species in vitro. *Biomaterials* 23:2255–64
69. Moseley R, Waddington RJ, Embery G (1997) Degradation of glycosaminoglycans by reactive oxygen species derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes. *Biochim Biophys Acta* 1362:221–31
70. Rubio-Gayosso I, Platts SH, Duling BR (2006) Reactive oxygen species mediate modification of glycocalyx during ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290:H2247–H56
71. Hayashida K, Parks WC, Park PW (2009) Syndecan-1 shedding facilitates the resolution of neutrophilic inflammation by removing sequestered CXC chemokines. *Blood* 114:3033–43
72. Haynes A, 3rd, Ruda F, Oliver J, et al (2005) Syndecan 1 shedding contributes to *Pseudomonas aeruginosa* sepsis. *Infect Immun* 73:7914–21
73. Hayashida K, Chen Y, Bartlett AH, Park PW (2008) Syndecan-1 is an in vivo suppressor of Gram-positive toxic shock. *J Biol Chem* 283:19895–903
74. Cheng AT, Plank LD, Hill GL (1998) Prolonged overexpansion of extracellular water in elderly patients with sepsis. *Arch Surg* 133:745–51
75. Jacob M, Rehm M, Orth V, et al (2003) Exact measurement of the volume effect of 6% hydroxyethyl starch 130/0.4 (Voluven) during acute preoperative normovolemic hemodilution. *Anaesthesist* 52:896–904
76. Perko MJ, Jarnvig IL, Hojgaard-Rasmussen N, et al (2001) Electric impedance for evaluation of body fluid balance in cardiac surgical patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 15:44–8
77. Rehm M, Orth V, Kreimeier U, et al (2000) Changes in intravascular volume during acute normovolemic hemodilution and intraoperative retransfusion in patients with radical hysterectomy. *Anesthesiology* 92:657–64
78. Rehm M, Orth VH, Weninger E, et al (2001) Acute “normovolemic” hemodilution with 3.5% polygel (haemaccel) for patients in the Wertheim-Meigs-operation. Blood loss of 87% blood volume without perioperative blood transfusion. *Anaesthesist* 50:580–4
79. Chappell D, Jacob M, Hofmann-Kiefer K, et al (2008) A rational approach to perioperative fluid management. *Anesthesiology* 109:723–40
80. Rehm M, Haller M, Orth V, et al (2001) Changes in blood volume and hematocrit during acute preoperative volume loading with 5% albumin or 6% hetastarch solutions in patients before radical hysterectomy. *Anesthesiology* 95:849–56