

GLICOCÁLIX

ROL EN CLÍNICA HUMANA Y ENFOQUE TRASLACIONAL

GLYCOCALYX

ROLE IN HUMAN CLINIC AND TRANSLATIONAL
APPROACH

GLICOCÁLIX

PAPEL NA CLÍNICA HUMANA E ABORDAGEM
TRANSLACIONAL



ISBN: 978-9942-792-37-2

Autores

Jorge Luis Vélez Páez
Mario Patricio Montalvo Villagómez
Fernando Esteban Jara González
Santiago Xavier Aguayo Moscoso
Pablo Andrés Vélez Páez
Carlos Gustavo Velarde Montero

Jorge Luis Vélez Paez
Mario Patricio Montalvo Villagómez
Fernando Esteban Jara González
Santiago Xavier Aguayo Moscoso
Pablo Andrés Vélez Paez
Carlos Gustavo Velarde Montero

GLICOCÁLIX
ROL EN CLÍNICA HUMANA Y ENFOQUE TRASLACIONAL
GLICOCALIX
ROLE IN HUMAN CLINIC AND TRANSLATIONAL APPROACH
GLYCOCALIX
PAPEL NA CLÍNICA HUMANA E ABORDAGEM
TRANSLACIONAL

Jorge Luis Vélez Paez
Mario Patricio Montalvo Villagómez
Fernando Esteban Jara González
Santiago Xavier Aguayo Moscoso
Pablo Andrés Vélez Paez
Carlos Gustavo Velarde Montero

GLICOCÁLIX
ROL EN CLÍNICA HUMANA Y ENFOQUE TRASLACIONAL
GLICOCALIX
ROLE IN HUMAN CLINIC AND TRANSLATIONAL APPROACH
GLYCOCALIX
PAPEL NA CLÍNICA HUMANA E ABORDAGEM
TRANSLACIONAL



Editado por:
Centro de Investigación y Desarrollo Profesional
CIDEPRO
Babahoyo, Ecuador
Móvil - (Whatsapp): (+593) 9 8 52-92-824
E-mail: editorial@cidepro.org
www.cidepro.org
ISBN: 978-9942-792-37-2
1° Edición, Septiembre 2018
Libro sometido a revisión de pares académicos.

Está prohibido, bajo las sanciones penales vigentes que ninguna parte de este libro puede ser reproducida, grabada en sistemas de almacenamiento o transmitida en forma alguna ni por cualquier procedimiento, ya sea electrónico, mecánico, reprográfico, magnético o cualquier otro sin autorización previa y por escrito del Centro de Investigación y Desarrollo Profesional (CIDEPRO).

Todos los derechos reservados © CIDEPRO, 2018



DEDICATORIAS

Jorge Luis Vélez Paez

A Jorge Andrés y Carla Antonella, por darme la más grande razón para mejorar día a día.

Mario Patricio Montalvo Villagómez

A mis hijos mi razón y mi fuerza para continuar el viaje y perseguir mis sueños.

Fernando Esteban Jara González

A quienes les debo millones de segundos, para ellas, a las que el tiempo jamás me alcanzará para devolverse, gracias por su comprensión, apoyo, y su incondicional forma de quererme: Camila, Isabella, Jenny.

Santiago Xavier Aguayo Moscoso

A mis padres: Por enseñarme los valores y principios.

A mi esposa: Por su apoyo incondicional en cada etapa que hemos vivido.

A mis hijas: Por la alegría que representan en mi vida.

Pablo Andrés Vélez Paez

A mi familia, quienes, con su apoyo incondicional, forman parte esencial de mis logros.

Carlos Gustavo Velarde Montero

Al motivo principal de mi esfuerzo diario, mi hijo Alexander y a esa persona que la vida me ha puesto para ser una compañera integral en la vida, Gabriela.

PRÓLOGO

Más allá de los proteoglucanos y las glucoproteínas. Cuando se explica bioquímica a alumnos de ciencias de la salud, al final del capítulo de las proteínas, debemos estudiar el glicocáliz. Es un tanto aburrido porque su diversidad hace difícil sintetizar lo que supone el glicocáliz en la biología. Es sencillo hablar de proteínas glomerulares y proteínas fibrosas, pero el temario se vuelve espeso cuando tenemos que hablar de las proteínas compuestas que se conjugan con azúcares. La complejidad de este tema radica en que no se conoce bien y por lo tanto, no se puede explicar con pasión. De ahí la pertinencia de este libro. Engolosinados con el ADN y las proteínas, los científicos hemos dejado a los azúcares de lado, debido a que los azúcares son la última frontera en biología. Lo que se conoce de azúcares está a años luz de lo que sabemos del ADN o de las proteínas. Es relativamente fácil trabajar con las proteínas o el ADN. Las técnicas están bien establecidas. Ayuda mucho el hecho que las proteínas son aminoácidos traducidos a partir de los tripletes de ADN. Así, si modificamos el ADN podemos producir cambios en las proteínas y eso nos ayuda a entender su función. No sucede lo mismo con los azúcares. Es difícil producir cambios en su estructura. En ciencia nos hemos limitado a inactivar las enzimas encargadas de que un azúcar se incorpore a una estructura mayor. Digamos que los biólogos moleculares han estado engolosinados trabajando con ADN y proteínas y han dejado los azúcares de lado.

Lo hermoso del glicocáliz es que además de las funciones obvias de lubricación, de permitir un espacio para mantener la estructura de la célula o los órganos o para organizar el agua y los nutrientes es que se trata de un código de información. ¿Alguien ha dicho código? Cuando hablamos de códigos atraemos a personas muy inteligentes a los que les gustan los retos. De repente lo aburrido se vuelve atractivo. Hoy en día, biólogos moleculares, de sistemas y computacionales están estudiando los códigos de azúcares, lo que se ha venido llamando el glucidoma, para comprender un nuevo lenguaje.

Y como siempre, el origen está en las bacterias. Por ejemplo, las bacterias más primitivas, las arqueobacterias, además de la membrana plasmática, en el exterior tienen una pared celular constituida de capas S de glucoproteínas, pseudopeptidoglicano o polisacáridos. En las eubacterias, la pared celular se compone de peptidoglicano que actúa como una malla que evita que la presión osmótica interna de la bacteria descomponga la membrana plasmática. Estas paredes celulares son estructuras organizadas, con límites definidos. Además, poseen un glicocáliz que no tiene límites definidos, se deforma con facilidad y pueden exudar materiales poliméricos para crear biopelículas.

La primera vez que la humanidad se dio cuenta que nuestra herencia estaba escrita en el ADN fue en 1944, precisamente estudiando el glicocáliz de *Streptococcus pneumoniae*. Recientemente, hemos descubierto el primer sistema de memoria colectiva estudiando las biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*. De esa manera, el

glicocáliz se nos muestra como algo más que una película mucosa de glucoproteína que sirve solo para mantener hidratadas a las células, canalizar nutrientes, vertebrar y soportar las membranas. El glicocáliz es donde la célula individual comprende que no está sola. Estas propiedades para identificar a una comunidad de células y así diferenciar lo propio de lo ajeno surgen hace 4000 millones de años, cuando aparece la primera bacteria. Las tres cuartas partes del tiempo de evolución del glicocáliz se dio exclusivamente en bacterias y protozoos porque los seres pluricelulares, como nosotros, aparecen en la Tierra hace solo 1000 millones de años. Las bacterias aprendieron a diferenciarse en linajes mediante esas glucoproteínas y glucolípidos. Pudieron así crear comportamientos sociales, ayudar a aquellas que eran semejantes y establecer estrategias para mantener a las ajenas. Crearon comportamientos altruistas y egoístas. La producción de glicocáliz estuvo regulada por sistemas moleculares que pueden ser definidos como memoria colectiva. Por eso, cuando los protozoos comenzaron a formar sistemas pluricelulares, todas esas herramientas de comportamiento social, de diferenciar lo propio de lo ajeno, ya estaban ahí. Los organismos pluricelulares utilizaron y utilizan el glicocáliz para ordenar a las células diferenciadas en linajes, para guiar su movimiento en el desarrollo y agruparlas en tejidos y órganos. Hoy en día, la medicina ha comprobado que incorporar al glicocáliz en nuestro mapa conceptual del cuerpo humano es imprescindible para entender múltiples procesos: la inmunidad de la infección,

como defendernos del cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la compatibilidad de los trasplantes o los defectos en el desarrollo embrionario. El presente libro nos presenta los últimos conocimientos en este campo de manera rigurosa y amena. Espero que lo disfruten tanto como yo lo he disfrutado.

Dr. Esteban Fernández Moreira.

PhD y Docente - Investigador Universidad de las Américas, Quito.

ÍNDICE

PRÓLOGO

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN AL GLICOCÁLIX ENDOTELIAL: RELEVANCIA CLÍNICA Y ENFOQUE TRASLACIONAL.....14

Autor:

Dr. Jorge Luis Vélez. MD. MSc. PhD (c)

Capítulo 2

GLICOCÁLIX Y DIABETES.....40

Autor:

Vélez Páez Pablo Andrés. MD

Capítulo 3

GLICOCALIX ENDOTELIAL COMO BLANCO DE AGRESIÓN DEL FENÓMENO ISQUEMIA REPERFUSIÓN.....57

Autor:

Montalvo Villagómez Mario Patricio MD. MSc.

Capítulo 4

ROL DEL GLICOCÁLIX EN LA ATROSCLEROSIS.....80

Autor:

Santiago Aguayo Moscoso. MD.

Capítulo 5

ROL DEL GLICOCÁLIX EN LA SEPSIS.....107

Autor:

Gustavo Velarde Montero. MD.

Capítulo 6

GLICOCÁLIX, SU ROL EN EL PACIENTE ONCOLÓGICO Y ENFOQUE TRASLACIONAL.....139

Autor:

Dr. Fernando Jara González.

INTRODUCCIÓN AL GLICOCÁLIX ENDOTELIAL: RELEVANCIA CLÍNICA Y ENFOQUE TRASLACIONAL.

Dr. Jorge Luis Vélez. MD. MSc. PhD (c)

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN AL GLICOCÁLIX ENDOTELIAL: RELEVANCIA CLÍNICA Y ENFOQUE TRASLACIONAL.

INTRODUCTION TO ENDOTHELIAL GLYCOCALYX: CLINICAL RELEVANCE AND TRANSLATIONAL APPROACH.

Dr. Jorge Luis Vélez. MD. MSc. PhD (c)

*“Las palabras nunca alcanzan cuando lo que
hay que decir desborda el alma”*

-Julio Cortázar

RESUMEN

El glicocáliz endotelial es una estructura sin forma definida que recubre la capa luminal del endotelio vascular y que está constituido principalmente por tres elementos: proteoglicanos, glucosaminoglicanos y glicoproteínas. Tiene funciones varias, entre las más destacadas: a. regulación de la permeabilidad vascular a los líquidos y moléculas; b. transducción de las fuerzas mecánicas de tensión vascular; c. regulación de las cascadas de coagulación y fibrinólisis; d. protección de la adhesión leucocitaria, plaquetaria y de patógenos. Los determinantes de lesión del glicocáliz pueden ser de varios tipos, entre los más relevantes: a. fuerzas de tensión anormales; b. especies reactivas de oxígeno (O₂); c. incremento a nivel plasmático de sustancias como el sodio (hipernatremia, glucosa

(hiperglicemia) y colesterol (hipercolesterolemia); d. moléculas proinflamatorias; cualquiera de las noxas citadas solas o combinadas lesionan el glicocáliz y la disfunción de éste se expresará clínicamente como: a. disfunción endotelial; b. incremento de la permeabilidad vascular; c. filtración de lipoproteínas al subendotelio; d. activación de la coagulación; e. incremento de la adhesión de leucocitos y plaquetas al endotelio.

Palabras claves: Glicocáliz, endotelio, proteoglicanos. (DeCS-BIREME)

ABSTRACT

The endothelial glycocalyx is a structure with no definite shape that covers the luminal layer of the vascular endothelium and which consists mainly of three elements: proteoglycans, glycosaminoglycans and glycoproteins. It has several functions, among the most outstanding: a. regulation of vascular permeability to liquids and molecules; b. transduction of mechanical forces of vascular tension; c. regulation of coagulation and fibrinolysis cascades; d. Protection of leukocyte, platelet and pathogen adhesion. The determinants of glycocalyx injury can be of several types, among the most relevant: a. abnormal tension forces; b. reactive oxygen species (O₂); c. increase in plasma level of substances such as sodium (hypernatremia, glucose (hyperglycemia) and cholesterol (hypercholesterolemia), d) proinflammatory molecules, any of the noxas cited alone or combined damage the glycocalyx and

the dysfunction of it will be expressed clinically as: a. endothelial dysfunction, b increase in vascular permeability, c) filtration of lipoproteins to the subendothelium, d) activation of coagulation, e) increased adhesion of leukocytes and platelets to the endothelium.

Keywords: Glycocalyx, endothelium, proteoglycans. (MeSH-NIH).

INTRODUCCIÓN

Zacarias Hanssen (1590), Galileo ; Antoy Van Leeuwenhoek; Robert Hook, entre otros dieron vida al microscopio óptico y con ello abrieron las puertas a la microscopía culminando con la invención del prolijo microscopio electrónico por Ruska y Knoll (entre 1925 – 1932). Éste invento permitió conocer la célula y estructuras moleculares más pequeñas, nos mostró que la célula (animal y bacteriana) está limitada externamente por una membrana, y que en algunas células éste límite externo está recubierto por una fina capa compuesta principalmente por mucopolisacáridos que se la ha denominado glicocáliz.

Los preparados para fijación de la microscopía de luz y electrónica a base de glutaraldehído y tetraóxido de osmio preservan los lípidos y proteínas celulares, pero eliminan los hidratos de carbono; esto hizo que el glicocáliz sea una observación relativamente reciente y solamente posible gracias al uso de otro tipo de métodos de fijación como el rojo de rutenio, que estabiliza los grupos aniónicos y preserva los hidratos de carbono poniendo de manifiesto el glicocáliz (1-2).

El glicocáliz ha sido observado en: bacterias (2), plaquetas (3-4), enterocitos (5), células linfoblastoides (6), leucocitos (7) y endotelio vascular (1).

ENDOTELIO VASCULAR

Inicialmente el endotelio era considerado una simple barrera física que separaba la capa media de los vasos y la sangre, hoy se sabe que ese concepto es incompleto ya que el endotelio es una capa unicelular que a más de la labor de separación mecánica es el regulador por excelencia de la homeostasis vascular. Sus células producen varios tipos de sustancias: a. de efecto vasodilatador (óxido nítrico, prostaciclina) y vasoconstrictor (endotelina, tromboxano A₂, anión superóxido); b. de efecto antitrombótico que se encuentran en la superficie endotelial (glicocáliz) como el heparán sulfato, peptidoglicano, trombomodulina; c. de regulación de la fibrinólisis al sintetizar el activador e inhibidor del plasminógeno tisular; d. de la regulación y crecimiento celular mediante factores de crecimiento (factor de crecimiento derivado de las plaquetas, factor de crecimiento básico derivado de fibroblastos, endotelina 1); e. de inhibición de la proliferación y crecimiento celular (factor de crecimiento transformador beta, óxido nítrico, prostaglandina I₂) (8-9)

Sobre el óxido nítrico (NO) diremos que es un radical libre de O₂ o una especie reactiva de O₂ (ROS), que tiene la particularidad de regular al alza o a la baja la producción de ROS a nivel de las mitocondrias de las

células endoteliales (10).

Es de importancia su efecto vasodilatador, ya que la mayoría de los métodos que valoran la función endotelial se fundamentan en la respuesta vasodilatadora al NO; ya sea por la aplicación de acetilcolina o por el incremento de las fuerzas de tensión que estimulan la secreción de NO, como en la prueba de vasodilatación mediada por flujo de la arteria braquial, en la que se aplica una presión levemente superior a la sistólica con el manguito de esfigmomanómetro y se mide la dilatación arterial que ocurre al liberar la presión del manguito. Esta prueba es reproducible y se ha demostrado que un resultado anormal se relaciona con incremento en el riesgo de eventos cardiovasculares agudos y se asocia claramente con la presencia de los distintos factores de riesgo Cardiovascular (11-13).

La pérdida de la respuesta fisiológica del endotelio se denomina disfunción endotelial, en ella se ve afectada la capacidad vasodilatadora, antioxidante y de regulación de la coagulación con las consecuencias clínicas inherentes (enfermedad coronaria, enfermedad vascular cerebral, disfunción eréctil, insuficiencia cardíaca) (14-18).

Entre otros los factores que determinan disfunción endotelial se enumeran en la tabla 1.

Tabla 1. Factores que dañan el glicocáliz endotelial.

- Trastornos de las fuerzas mecánicas de tensión.
- Enzimas: heparinasa, hialuronidasa, neuraminidasa, metaloproteínasa de la matriz, etc.
- Especies reactivas de oxígeno.
- Hipernatremia.
- Dieta aterogénica (hipercolesterolemia).
- Lipoproteínas de baja densidad oxidadas.
- Hiperglicemia aguda, hiperglicemia crónica, diabetes mellitus I-II.
- Factor de necrosis tumoral alfa.
- Hiperhomocisteinemia.
- Enfermedades autoinmunes: lupus eritematoso sistémico, enfermedad indiferenciada del tejido conectivo.

***Modificado de Frati-Munari 2013**

La relación de la disfunción endotelial con la enfermedad coronaria es una verdad establecida. Se ha demostrado que el grado de disfunción coronaria guarda relación directa con la extensión del daño aterosclerótico, con el número de arterias coronarias afectadas y con el grado de obstrucción arterial (19).

El estrés oxidativo aumentado parece ser importante en la génesis de la disfunción endotelial que ocurre en la diabetes mellitus (20) y en las enfermedades cardiovasculares (21).

En consenso se entiende que los distintos factores de riesgo cardiovascular causan disfunción endotelial y que ésta es la condición definitiva de la génesis posterior de la aterosclerosis (22).

La disfunción endotelial también aparece como un mecanismo potencial en las complicaciones microvasculares de la diabetes mellitus, especialmente en la nefropatía diabética (20,23).

En la enfermedad venosa crónica, el incremento sostenido de la presión

venosa genera el incremento de diversas moléculas endoteliales proinflamatorias como las moléculas de adhesión leucocito endotelio: molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1) y molécula de adhesión vascular 1 (VCAM-1). Elevaciones importantes de éstas sustancias y el incremento concomitante del factor de Von Willebrand diferencia la enfermedad venosa severa de la leve (24). Al parecer el reclutamiento y adhesión leucocitario que inducen son los responsables de lo citado (25).

EL GLICOCÁLIX ENDOTELIAL

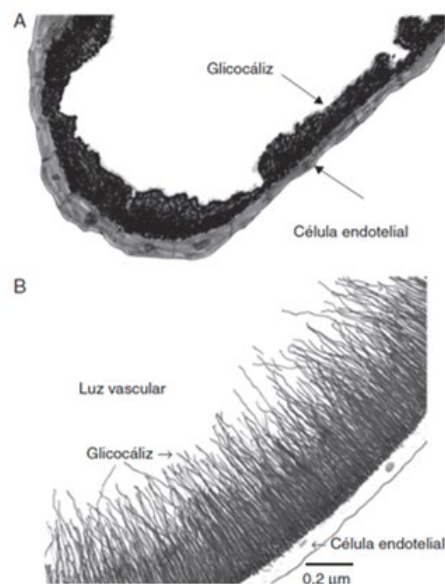
Estructura

Es la capa luminal que recubre el endotelio del árbol vascular (arterias, venas, capilares).

Dependiendo del método utilizado para la fijación en microscopía electrónica, puede verse de la siguientes formas: (figura 1)

- **Rojo de rutenio:** Como un material amorfo o grumoso.
- **Azul alciano:** Como una malla de finos filamentos.

Figura 1. Visualización del glicocáliz en microscopía electrónica, en A con rojo de rutenio y en B con azul de alciano.



*Modificado de Frati-Munari 2013

Su espesor varía dependiendo del método y del tipo de vaso sanguíneo, varía de entre 20 a 500nm (26-29).

La estimación del grosor in vivo del glicocáliz puede hacerse midiendo la distancia entre el endotelio y la columna de eritrocitos, esto se ha hecho en vasos sublinguales y retinianos (30).

El glicocáliz está formado por tres componentes básicos (figura 2):

- Proteoglicanos.
- Glucosaminoglicanos (GAG)
- Glicoproteínas.

PROTEOGLICANOS

Los proteoglicanos son sintetizados en las células endoteliales, los más abundantes son: sindecanos 1, 2 y 4; glipicano 1 y perlecano.

Son cadenas proteicas con un dominio a nivel del citoplasma de la célula endotelial (sostiene el glicocáliz) y otro dominio externo en donde se anclan las moléculas de glucosaminoglicanos.

GLUCOSAMINOGLICANOS

Se producen en las células endoteliales y probablemente a nivel plasmático, se unen fundamentalmente al proteoglicano en su dominio externo, los principales son: heparán sulfato, condritín sulfato, dermatán sulfato y en pequeñas cantidades de queratán sulfato.

El hialuronano (ácido hialurónico) es un GAG no sulfatado que no forma parte de proteoglicanos y que se encuentra de manera abundante en la porción más superficial del glicocáliz.

GLICOPROTEÍNAS

También de síntesis endotelial, se anclan al citoplasma endotelial (al igual que los proteoglicanos), son proteínas cortas con cadenas laterales de azúcares ramificados, son de dos tipos:

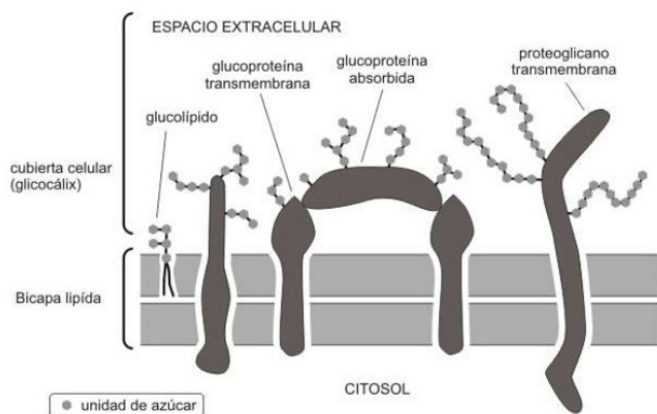
- a. Moléculas de adhesión endotelial que juegan un rol importante en la señalización celular, como la familia de las selectinas (E, P, L), integrinas y moléculas de adhesión intracelular (ICAM-1, VCAM-1).
- b. Complejos funcionales que regulan la coagulación, fibrinólisis

y hemostasia como el complejo de glicoproteína Ib-IX-V que se une al factor de Von Willebrand (28).

La porción luminal del glicocáliz, la que tiene contacto directo con la sangre, tiene además incrustadas proteínas plasmáticas como la albumina y GAG y proteoglicanos de origen plasmático.

Cabe mencionar que el glicocáliz es una estructura dinámica, no estática, que depende la interacción de sus constituyentes y el microambiente vascular (31-33).

Figura 2. Estructura del glicocáliz, nótese la conformación transmembrana de los proteoglicanos y las glicoproteínas, con azúcares (GAG) unidos a nivel de la cubierta celular.



FUNCIONES

Se han identificado varias funciones (tabla 2).

Tabla 2. Funciones del glicocáliz endotelial.

- Protector, sensor y transductor de las fuerzas mecánicas del torrente sanguíneo.
- Regulación de la permeabilidad de agua y solutos.
- Regulación de la filtración glomerular.
- Regulación de la permeabilidad de macromoléculas (proteínas).
- Regulación del hematocrito capilar y el flujo sanguíneo capilar.
- Barrera a la filtración de lipoproteínas.
- Prevención de la adhesión de plaquetas al endotelio.
- Prevención de la adhesión de leucocitos al endotelio.
- Regulación local de la coagulación (prevención de trombosis, activación de fibrinólisis).

***Modificado de Frati-Munari 2013**

EN LA TRASDUCCIÓN DE FUERZAS MECÁNICAS

El glicocáliz es un modulador entre las fuerzas mecánicas tangenciales del torrente sanguíneo (fuerzas de tensión) y las células del endotelio vascular. Someter a fuerzas de tensión (estáticas o pulsátiles) al endotelio genera liberación de NO, al degradar previamente el glicocáliz mediante lisis enzimática (hialuronidasa, heparinasa) se evita éste fenómeno (34-35), lo que demuestra la relevancia del glicocáliz en éste fenómeno.

Las fuerzas de tensión excesivas causan una torsión del dominio intracitoplasmático de los proteoglicanos que se transmite al citoesqueleto cortical de actina en la célula endotelial, ésta sería el desencadenante de la liberación de NO, parte de éstos cambios han podido verse con microscopía confocal (1, 32-36)

Las fuerzas de tensión normales son un factor de bienestar del

glicocáliz ya que incrementan la síntesis de hialuronano y GAG sulfatados (37-39).

EN LA REGULACIÓN DE LA PERMEABILIDAD

El glicocáliz es mediador de los cambios de permeabilidad del agua ante las fuerzas de tensión, evita el edema y regula la filtración de proteínas (40-43). La carga negativa de los GAG es de alta importancia para ello (44).

Al aportar sodio (Na) en grandes cantidades se observó disminución del grosor del glicocáliz, esto permitió ingreso masivo de Na a las células endoteliales produciendo rigidez vascular y disminución de la síntesis del NO (45), esto explicaría por qué el consumo de sal agravaría y perpetuaría la rigidez vascular en pacientes con hipertensión arterial (46).

A nivel renal el glicocáliz es la primera capa de cuatro que determinan la selectividad en el filtrado glomerular (glicocáliz, endotelio fenestrado, membrana basal glomerular, podocitos) (47-49).

EN LA ADHESIÓN DE LEUCOCITOS E INFLAMACIÓN

Lesionar intencionalmente el glicocáliz con heparitinasa genera incremento de la adhesión leucocitaria (50, 51). El hialuronano (ácido hialurónico) es cardinal para la activación de los neutrófilos interactuando con el contrarreceptor CD44 de adhesión estimulado por en TNF alfa (52).

Las citocinas proinflamatorias lesionan el glicocáliz y generan

aumento de la permeabilidad vascular a las macromoléculas. Henry y Duling (53), infundieron TNF alfa en el músculo cremasteriano de hámster, demostraron disminución del grosor endotelial, penetración transcapilar de macromoléculas como albúmina, dextranos 70 y 580 e inmunoglobulina G y adhesión leucocitaria incrementada.

Se postula que la degradación del glicocáliz está dado por proteasas, fundamentalmente por la metaloproteinasa de matriz (MMP) que se almacena en vesículas de la célula endotelial y que tiene afinidad por el heparán sulfato y sindecano-1, esto desnudaría el endotelio y expondría moléculas de adhesión como el ICAM-1 y el VCAM-1. Éste aspecto es relevante, ya que es el paso inicial de la diapedésis leucocitaria e inflamación vascular (54). Un dato a favor del concurso de las MMP en la degradación del glicocáliz es su recuperación y estabilización tras la administración de doxiciclina una tetraciclina que inhibe la activación de las MMP (55-57)

El fenómeno isquemia reperusión también disminuye el grosor del glicocáliz e incrementa la adhesión leucocitaria (1,55-57).

EN LA COAGULACIÓN

La lesión y pérdida de sustancia del glicocáliz incrementa la adhesión plaquetaria, también expone al heparán sulfato el mismo que activa un efecto anticoagulante local al inducir producción de antitrombina e inhibir el factor Xa de la coagulación.

El dermatán sulfato ejerce un efecto antitrombótico al interactuar con

el cofactor II de la heparina (HC II), esto inactiva directamente a la trombina, por ende paraliza la cascada de la coagulación.

En la regulación del hematocrito y flujo capilar (58-60)

El glicocáliz regula la concentración de eritrocitos a nivel capilar, al lesionarlo (con heparinasa) se produce una elevación sostenida del hematocrito capilar y se pierde el efecto Fharæus Lindquist (efecto del diámetro del vaso sobre el riego sanguíneo) (61, 62).

Experimentalmente se ha encontrado que la hiperglicemia aguda, a más de lesionar el glicocáliz incrementando su permeabilidad, también causa una disminución de la densidad capilar con flujo sanguíneo efectivo.

Luego de relatar las funciones del glicocáliz, es evidente que su disrupción genere consecuencias clínicas, las cuales las citaremos en la tabla 3.

Tabla 3. Consecuencias del deterioro del glicocáliz endotelial.

- Edema pericapilar.
- Incremento de la permeabilidad a macromoléculas.
- Incremento del hematocrito capilar.
- Disfunción endotelial.
- Disminución de la liberación de óxido nítrico en respuesta a las fuerzas de tensión.
- Filtración de lipoproteínas (LDL) al espacio subendotelial.
- Adhesión de leucocitos al endotelio.
- Adhesión de plaquetas al endotelio.
- Activación de la coagulación plasmática.

*Modificado de Frati-Munari 2013

ENFOQUE TRASLACIONAL

Ahora que tenemos un concepto establecido del glicocáliz, hay

que tratar de extrapolar éstos conocimientos y potenciales blancos terapéuticos al uso clínico, para ello citaremos ciertas patologías en las cuales la lesión endotelial y por ende del glicocáliz tienen un rol cardinal en su fisiopatología.

- **Glicocáliz y Diabetes:** El factor de daño endotelial es la hiperglicemia, el blanco clínico sería la restauración del glicocáliz, para ello se administra un fármaco llamado sulodexide (una mezcla de heparina, dermatán sulfato y condritín sulfato) que inhibe la heparanasa y a la MMP, los resultados en diabéticos tipo II han sido alentadores (64).
- **Glicocáliz e Isquemia:** En dónde el daño del glicocáliz se da tanto por la isquemia, como por la reperfusión posterior, se ha planteado la medición de GAG para determinar el grado de lesión endotelial y se está usando ya con relativo éxito fármacos que regeneran el glicocáliz como el suledoxide ya citado (64), verificando disminución del área de infarto, de las concentraciones de proteína C reactiva y moléculas de adhesión intracelular en el área de miocardio estudiado.
- **Glicocáliz y Sepsis.** El daño al glicocáliz es producido por un estado inflamatorio sistémico que lleva a sobreexpresión de las moléculas de adhesión intracelular (65-68) y activación de la heparanasa (69, 70), cualquiera de éstas dos vías podría ser modificada farmacológicamente y verificar si esto conlleva

a disminución de la trombosis microvascular, la fuga capilar que entre otros son determinantes independientes de falla multiorgánica.

- **Glicocáliz y Aterosclerosis:** Se busca principalmente restaurar el glicocáliz disminuyendo la acumulación de colesterol y plaquetas (estatinas y aspirina respectivamente), y a nivel experimental se está usando albúmina, heparán sulfato, condritin sulfato y rhamnan sulfato (similar al heparán sulfato) para restaurar el endotelio y glicocáliz lesionado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Frati-Munari A. Importancia médica del glucocáliz endotelial. Arch Cardiol Mex. 2013; 83(4):303-312.
2. Echandi K, Hernández F. Comparación de dos métodos de fijación para la estabilización de glicocalix bacteriano. Rev Biomed. 1998;9, 1---7.
3. Behnke O. Electron microscopical observations on the Surface coating of human platelets. J Ultrastruct Res. 1968;24:51---69.
4. O'Brien JR. Some effects of mucopolysaccharide stains on platelet aggregation. J Clin Path. 1970;23:784---8.
5. Boom A, Daems WTh, Luft JH. On the fixation of intestinal absorptive cells. J Ultrastruct Res. 1974;48:350---60.
6. Rosenfeld C, Paintrand U, Choquet C, et al. Cyclic variations in the ruthenium red stained coat cells from a synchronized human

lymphoblastoid line. Exp Cell Res. 1973;79:465---8.

7. Maksimenko AV, Turashev AD. No-reflow phenomenon and endothelial glycocalyx of microcirculation. Biochem Res Int. 2012;2012:859231.<http://dx.doi.org/10.1155/2012/859231>.
8. Loscalzo J. Nitric oxide and vascular disease. N Engl J Med. 1995;333:251---3.
9. Deanfield J, Donald A, Ferri C, et al. Endothelial function and dysfunction. Part I. Methodological issues for assessment in the different vascular beds: A statement by Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. J Hyperten. 2005;23:7---17.
10. Zhang DX, Gutterman DD. Mitochondrial reactive species mediated signaling in endothelial cells. Am J Physiol Heart CircPhysiol. 2006;292:H2023---31.
11. VerdejoParís J. Función endotelial. Arch Cardiol Mex. 2006;76(S2):S164---9.
12. Ghiadoni L, Versari D, Giannarelli C, et al. Non-invasive diagnostic tools for investigating endothelial dysfunction. Curr Pharm Des. 2008;14:3715---22.
13. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, et al. Endothelium dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. J Am Coll Cardiol. 1994;15:1468---74.

14. Vanhoutte P. Ageing and endothelial dysfunction. *Eur Heart J*. 2004;4 Suppl A:A8---17.
15. Seller AM, Schachinger V, Minners J. Long-term cigarette smoking impairs endothelium-dependent coronary artery vasodilator function. *Circulation*. 1995;92:1094---110.
16. Quyyumi AA, Mulcahy D, Andrews NP, et al. Coronary vascular nitric oxide activity in hypertension and hypercholesterolemia. Comparison of acetylcholine and substance P. *Circulation*. 1997;95:104---10.
17. Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, et al. Endothelial function and dysfunction. Part II. Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005;23:233---46.
18. Tani C, Mosca M, d'Ascanio A, et al. [Chronic inflammation and endothelial dysfunction: An analysis of a cohort of patients with SLE and UCTD]. *Reumatismo*. 2006;58:212---8.
19. Neunteufl T, Katzenschlager R, Hassan A, et al. Systemic endothelial dysfunction is related to the extent and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 1997;129:111---8.
20. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications. A unifying mechanism. *Diabetes*. 2005;54:1615---25.
21. Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M, et al. Endothelial function and

- oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ J*. 2009;73:411---8.
22. Avogaro A, Fadini GP, Gallo A, et al. Endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2006;16 Suppl 1:S39---45.
23. Kavalliede JC, Gnudi L. Endothelial factors and diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 2011;34 suppl 2:S291---6.
24. Saharay M, Shields DA, Georgiannos SN, et al. Endothelial activation in patients with chronic venous disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1998;15:342---9.
25. Nash GB, Buckley CD, Rainger GE. The local physicochemical environment conditions the proinflammatory response of endothelial cells and thus modulates leukocyte recruitment. *FEBS Letters*. 2004;569:13---7.
26. Luft JH. Fine structure of capillary and endocapillary layer as revealed by ruthenium red. *Fed Proc*. 1966;25:1773---83.
27. Van den Bergh BM, Vink H, Spaan JA. The endothelial glycocalyx protects against myocardial edema. *Circ Res*. 2003;92:592---4.
28. Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, et al. The endothelial glycocalyx: Composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch*. 2007;454:345---59.
29. Ben WY, Cai B, Zeng M, et al. Quantification of the endothelial surface glycocalyx on rat and mouse blood vessel. *Microvasc Res*. 2012;83:337---46.

30. Nieuwdorp M, Meuwese MC, Mooij HL, et al. Measuring endothelial glycocalyx dimensions in humans: A potential novel tool to monitor vascular vulnerability. *J Appl Physiol*. 2008;104:845---52.
31. Nieuwdorp M, Meuwese MC, Vink H, et al. The endothelial glycocalyx: A potential barrier between health and vascular disease. *Curr Opin Lipidol*. 2005;16:507---11.
32. Tarbell JM, Pahakis MY. Mechanotransduction and glycocalyx. *J Intern Med*. 2006;259:339---50.
33. Becker BF, Chappell D, Bruegger D, et al. Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: Acute deficits, but great potential. *Cardiovasc Res*. 2010;87:300---10.
34. Florian JA, Kosky JR, Ainslie K, et al. Heparan sulfate proteoglycan is a mechanosensor on endothelial cells. *Circ Res*. 2003;93:e136---42.
35. Mochizuki S, Vink H, Hiramatsu O, et al. Role of hyaluronic acid glycosaminoglycans in shear-induced endothelium-derived nitric oxide release. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285:H722---6.
36. Thi MM, Tarbell JM, Weinbaum S, et al. The role of the glycocalyx in reorganization of the actin cytoskeleton under fluid shear stress: A bumper-car model. *PNAS*. 2004;101:16483---8.
37. Arisaka T, Mitsumata M, Kawasumi M, et al. Effects of shear stress on glycosaminoglycan synthesis in vascular endothelial cells. *Ann NY Acad Sci*. 1995;748:543---54.
38. Gouverneur M, vanden Berg B, Nieuwdorp M, et al. Vasculoprotective

- properties of the endothelial glycocalyx: Effects of fluid shear stress. *J Intern Med*. 2006;259:393---400.
39. Barakat AI. Dragging along: The glycocalyx and vascular endothelial cell mechanotransduction. *Circ Res*. 2008;102:747---8.
 40. Lopez-Quintero SV, Amaya R, Pahakis M, et al. The endothelial glycocalyx mediates shear-induced changes in hydraulic conductivity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;296:H1451---6.
 41. Van Haaren PMA, van Bavel E, Vink H, et al. Localization of the permeability barrier to solutes in isolated arteries by confocal microscopy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285:H2848---56.
 42. Huxley HH, Williams DA. Role of a glycocalyx on coronary arteriole permeability to proteins: Evidence from enzyme treatments. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;278:H1177---85.
 43. Jacob M, Bruegger D, Rehm M, et al. The endothelial glycocalyx affords compatibility of Starling's principle and high cardiac interstitial albumin levels. *Cardiovasc Res*. 2007;73:575---86.
 44. Van Haaren PMA, van Bavel E, Vink H, et al. Charge modification of endothelial surface layer modulates the permeability barrier of isolated rat mesenteric small arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289:H2503---7.
 45. Oberleithner H, Peters W, Kusche-Vihrog K, et al. Salt overload damages the glycocalyx sodium barrier of vascular endothelium. *Pflugers Arch*. 2011;462:519---28.

46. Kusche-Vihrog K, Oberleithner H. An emerging concept of vascular salt sensitivity. *F1000 Biol Rep.* 2012;4:20. <http://dx.doi.org/10.3410/B4-20>.
47. Rostgaard J, Qvortrup K. Electron microscopic demonstrations of filamentous molecular sieve plugs in capillary fenestrae. *Microvasc Res.* 1997;53:1---13.
48. Rostgaard J, Qvortrup K. Sieve plugs in fenestrae of glomerular capillaries-site of filtration barrier. *Cells Tissue Organs.* 2002;170:132--8.
49. Haraldsson B, Sörensson J. Why do not all have proteinuria? An update of our current understanding of glomerular barrier. *Physiology.* 2004;19:7---10.
50. Desjardins C, Duling BR. Heparinase treatment suggests a role for the endothelial cell glycocalyx in regulation of capillary hematocrit. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1990;258:H647---54.
51. Zuurbier CJ, Demirci C, Koeman A, et al. Short-term hyperglycemia increases endothelial glycocalyx permeability and acutely decreases lineal density of capillaries with flowing red blood cells. *J Appl Physiol.* 2005;99:1471---6.
52. Butler LM, Rainger GE, Nash GB. A role for the endothelial glycosaminoglycan hyaluronan in neutrophil recruitment by endothelial cells cultured for prolonged periods. *Exp Cell Res.* 2009;315:3433---41.

53. Henry CBS, Duling BR. TNF- α increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000;279:H2815---23.
54. Lipowsky HH. Protease activity and the role of the endothelial glycocalyx in inflammation. *Drug Discov Today Dis Models.* 2011;8:57---62.
55. Mulivor AW, Lipowsky HH. Inflammation -and ischemia- induced shedding of venular glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286:H1672---80.
56. Mulivor AW, Lipowsky HH. Inhibition of glycan shedding and leukocyte- endothelial adhesion in postcapillary venules by suppression of matrix metalloprotease activity with doxycycline. *Microcirculation.* 2009;16:657---66.
57. Lipowsky HH, Gao L, Lescanic A. Shedding of the endothelial glycocalyx in arterioles, capillaries, and venules and its effect on capillary hemodynamics during inflammation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011;301:H2235---45.
58. Iacoviello L, D'Ádamo MC, Pawlak K, et al. Antithrombotic activity of dermatan sulphates, heparins and their combination in animal model of arterial thrombosis. *Thromb Haemost.* 1996;76:1102--7.
59. Trowbridge JM, Gallo RL. Dermatan sulfate: New functions from an old glycosaminoglycan. *Glycobiology.* 2002;12:117R---25R.

60. Tovar AM, de Mattos DA, Stelling MP, et al. Dermatan sulfate is the predominant antithrombotic glycosaminoglycan in vessel walls: Implications for a possible physiological function of heparin cofactor II. *Biochem Biophys Acta*. 2005;15: 45---53.
61. He L, Giri TK, Vicente CP, et al. Vascular dermatan sulfate regulates the antithrombotic activity of heparin cofactor II. *Blood*. 2008;111:4118---25.
62. Tollefsen DM. Heparin cofactor II modulates the response to vascular injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:54---460.
63. Steppan J, Hofer S, Funke B, Brenner T, Henrich M, Martin E, et al. Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalyx. *J Surg Res*. 2011;165:136–41.
64. Irina Sieve, Anja K Münster-Kühnel. Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases. *Elsevier Vascular pharmacology* 100 (2018) 26-33.
65. Gunst J, Derese I, Aertgeerts A, Ververs EJ, Wauters A, Van den Berghe G, et al. Insufficient autophagy contributes to mitochondrial dysfunction, organ failure, and adverse outcome in an animal model of critical illness. *Crit Care Med*. 2013;41:182–94.
66. Karamysheva AF. Mechanisms of angiogenesis. *Biochemistry (Mosc)*. 2008;73:751–62.

67. B.F.Becker,D. Chappell,D.Bruegger, T.Annecke, andM. Jacob, “Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential,” *Cardiovascular Research*, vol. 87,no. 2, pp. 300–310, 2010.
- 68.G. Chen, D. Wang, R. Vikramadithyan et al., “Inflammatory cytokines and fatty acids regulate endothelial cell heparanase expression,” *Biochemistry*, vol. 43, no. 17, pp. 4971–4977, 2004.
69. R. Goldberg, A.Meirovitz, N. Hirshoren et al., “Versatile role of heparanase in inflammation,” *Matrix Biology*, vol. 32, no. 5, pp. 234–240, 2013.
70. K. J.Goodall, I.K.H.Poon, S. Phipps, andM.D.Hulett, “Soluble heparan sulfate fragments generated by heparanase trigger the release of pro-inflammatory cytokines through TLR-4,” *PLoS ONE*, vol. 9, no. 10, Article IDe109596, 2014.

GLICOCÁLIX Y DIABETES

Vélez Páez Pablo Andrés. MD

Capítulo 2

GLICOCÁLIX Y DIABETES GLYCOCALYX AND DIABETES

Vélez Páez Pablo Andrés. MD

“Todos los triunfos nacen cuando nos atrevemos a comenzar”

-Eugene Ware.

RESUMEN

Anatómicamente, el recubrimiento interno de estructuras como el corazón, vasos sanguíneos y vasos linfáticos, está conformado por células endoteliales y estas a su vez, en su porción apical, contienen una estructura compleja conformada por macromoléculas, a la que se denomina glicocáliz. Como componentes principales de esta estructura tenemos a proteoglicanos, glicoproteínas y proteínas de unión, cuya función principal la desarrolla en territorio endotelial, regulando la permeabilidad mediante el mantenimiento de la presión oncótica en la barrera endotelial, además, regula la acción de moléculas de adhesión y la migración leucocitaria, evitando de esta manera la trombosis intravascular, sin olvidar su función de regulación del tono microvascular. El objetivo de esta revisión es conocer los conceptos actuales acerca de la función del glicocáliz dentro de una patología muy común en la actualidad como la diabetes, lo que nos ayudará a un manejo más específico de estos pacientes en estado de gravedad. (1)

Palabras clave: Glicocáliz, proteoglicanos, glicoproteínas, proteínas de unión, diabetes (DeCS-BIREME).

ABSTRACT

Anatomically, the internal coating of structures such as the heart, blood vessels and lymphatic vessels, is made up of endothelial cells and these in turn, in their apical portion, contain a complex structure made up of macromolecules, which is called glycocalyx. As main components of this structure we have proteoglycans, glycoproteins and binding proteins, whose main function is developed in the endothelial territory, regulating the permeability by maintaining the oncotic pressure in the endothelial barrier, also regulates the action of adhesion molecules and leukocyte migration, thus avoiding intravascular thrombosis, without forgetting its microvascular tone regulation function. The objective of this review is to know the current concepts about glycocalyx function in a very common pathology such as diabetes, which will help us to more specific management of these patients in a state of gravity. (1)

Keywords: Glycocalyx, proteoglycans, glycoproteins, binding proteins, diabetes (MESH-NIH).

INTRODUCCIÓN

La hiperglucemia en su forma aguda o en su forma crónica como la que está presente en pacientes con diabetes mellitus, se asocia con mayores tasas de morbilidad, mortalidad y disminución del resultado clínico. Se conoce que la hiperglucemia genera una vasculopatía con disminución de la vasodilatación dependiente del endotelio, aumento

de la permeabilidad capilar en general, sobre todo para proteínas grandes como la albúmina, edema de células endoteliales, disminución de las dimensiones y diámetros capilares y engrosamiento de la lámina basal.

El glicocáliz de las células endoteliales, es un factor significativo en la regulación microvascular por su acción sobre el volumen y la permeabilidad de los capilares, la evidencia demuestra un papel de este en modelos de lesión endotelial por hiperglucemia, convirtiendo en protagonista al estrés oxidativo y a una mayor adherencia de leucocitos, obteniendo como resultado, una alteración endotelial global con pérdida funcional de los capilares. (2-12)

Como sabemos, la diabetes mellitus es una enfermedad de origen metabólico clínicamente bien conocida, relacionada con la ausencia o resistencia a la insulina y la posterior génesis de hiperglucemia. Los pacientes que poseen esta patología, tienden a desarrollar complicaciones vasculares, microalbuminuria, retinopatía y nefropatía, y riesgos elevados de eventos cardiovasculares aterotrombóticos. Los mecanismos patológicos que son la génesis en la enfermedad vascular asociada a la diabetes, incluyen inflamación vascular acentuada y aumento del estrés oxidativo. Todas estas complicaciones están relacionadas con funciones vasculares alteradas, como la permeabilidad endotelial mejorada y la función del óxido nítrico sintetasa alterada, lo que compromete la capacidad protectora de la

pared del vaso y añadido a ello, una función alterada del endotelio en pacientes con diabetes mellitus que muestran signos de degradación del glicocáliz. En el glomérulo, el daño al glicocáliz endotelial puede alterar la permeabilidad de los lechos capilares(18), que se evidencia clínicamente como la albuminuria más un aumento de la permeabilidad microvascular sistémica. (4)

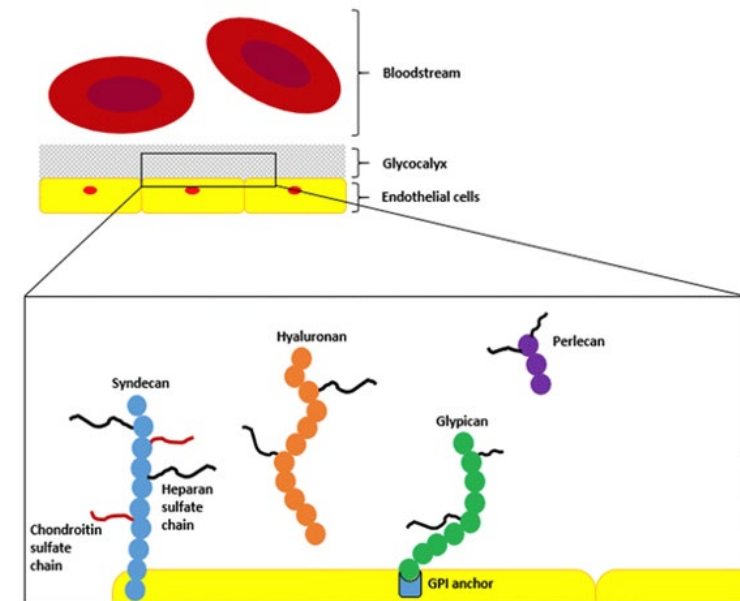
Una característica importante de la diabetes es que la vasculatura se torna muy vulnerable, con la característica de presentar aterogénesis acelerada.(19) Se ha demostrado que existe asociación positiva entre la diabetes y una disminución de la capacidad protectora de la pared del vaso, así mismo, se asocia también, con un aumento de la permeabilidad del endotelio, un aumento de la adhesión leucocitaria y una alteración de la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO), de esta manera se esclarece la fisiopatología inicial del daño endotelial, sin embargo, aún falta descubrir completamente la vía común de afectación del glicocáliz. (2-8)

Como se ha explicado anteriormente, el glicocáliz, con un grosor de hasta 1 μm , cubre el endotelio y consiste en proteoglicanos derivados de células endoteliales, glicoproteínas y proteínas plasmáticas adsorbidas, de todos sus componentes(17), resalta uno en especial, los glicosaminoglicanos hialuronanos(9), ya que toman un protagonismo crucial para mantener las propiedades de barrera endotelial para las macromoléculas plasmáticas. El glicocáliz también sirve como un

mecanosensor de estrés por cizallamiento, mediando la liberación de NO inducida por cizallamiento por las células endoteliales.(13-20)

Con todo esto podemos concluir que la homeostasis vascular depende en gran medida de la integridad del glicocáliz y que cualquier alteración en el mismo, contribuye a una mayor vulnerabilidad del sistema vascular y más aún en un panorama de hiperglicemia sostenida. (2)

Fig. 1. Representación esquemática del glicocalix y sus constituyentes (15)



Tomado de: H. Kolarova, B. Ambruzova, L. Svihaikova Sindlerova, A. Klinke, L. Kubala, Modulation of endothelial glycocalyx structure under inflammatory

Papel de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno en la degradación del glicocáliz en la enfermedad vascular.

El estrés oxidativo y las especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RNS) son de real importancia en el contexto de la degradación del glicocáliz(11-14); al referirnos a ROS tomamos en cuenta a peróxidos y radicales aniones como carbonato (CO_3^-) y radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) que actúan de una forma no enzimática, formando enlaces químicos de alta afinidad con moléculas como ADN, proteínas, lípidos y otras especies de oxígeno, modificando su estructura; citamos como ejemplo la reacción química de unión entre el anión superóxido (O_2^-) y un (RNS) el óxido nítrico (NO) formando peroxinitrito (ONOO) que es otro tipo de (RNS), pero tal unión, conlleva a la disminución del (NO) que es clave para la regulación del tono vascular en condiciones fisiológicas. De manera similar (ROS) y (RNS) se caracterizan por actuar directamente en componentes del glicocáliz como lo son los glucosaminoglicanos como heparán sulfato (HS), seguido de sulfato de condroitina (CS) y sulfato de dermatán (DS), pero hay un GAG especial conocido como hialuronano (HA) (13) que es sintetizado en la cara interna de la membrana plasmática y que se caracteriza por ser lineal, no sulfatado, cargado negativamente y compuesto de unidades repetitivas de ácido glucurónico y N-acetilglucosamina, este HA es el más susceptible a las modificaciones químicas y cuyos fragmentos estimulan la producción de ROS por

parte de fagocitos sanguíneos de manera directamente proporcional al tamaño. (3-5)

Efecto de metaloproteinasas de matriz activada en la degradación del glicocáliz

De manera indirecta, las ROS en el tejido endotelial, activan metaloproteinasas (MMP) de la matriz que son endopeptidasas dependientes de zinc que tienen como función principal, la degradación de gelatinas, elastina y por su puesto, colágeno de la matriz celular, dando como resultado la remodelación vascular, dentro de las patologías vasculares, entre ellas la diabetes, las fuentes de producción principales de MMP son las células inflamatorias, pero también se mencionan una vez que son estimuladas por citocinas de macrófagos activados(10), a células del músculo liso tanto endoteliales como vasculares.

Las MMP dañan los componentes del glicocáliz una vez que han escindido el núcleo proteico de los proteoglicanos, como los sindecanos, lo que da como resultado la disminución del HS unido a sindecanos en la capa superficial, la presencia de sindecanos libres de HS, promueve la trombosis y la inflamación endotelial. Por lo tanto, se cree que la inhibición de MMP específicas podría proporcionar una opción para atenuar la destrucción del glicocáliz en la enfermedad vascular. (3-5)

Efectos de la heparanasa y la hialuronidasa activadas en la degradación del glicocáliz

La permeabilidad de la barrera endotelial está generada por la producción de ROS, que, a su vez, su fuente de producción está basada en la presencia de HA de bajo peso molecular que provienen de hialuronidasas extracelulares específicas, esto junto con el desprendimiento de HS por heparanasas, permiten la adhesión al endotelio de leucocitos circulantes mediante la unión de moléculas de adhesión intercelulares como lo son el (ICAM-1) y la molécula de adhesión de células vasculares (VCAM-1).

Por otro lado, HA y HS de bajo peso molecular, tienen la capacidad de activar la expresión de citoquinas tanto en monocitos como en macrófagos(10), activando a moléculas como el CD44 y a receptores Toll-like 2 y 4 para la activación y translocación nuclear del factor nuclear- κ B, que da como resultado la expresión de citocinas inflamatorias (por ejemplo, TNF- α , IL-1 β e IL-8) y de ellas el TNF- α puede activar MMP para la generación de ROS, intensificando de esta manera el daño de la membrana endotelial y del glicocáliz específicamente. (3-5)

Ácidos siálicos y sus enzimas moduladoras en patología vascular

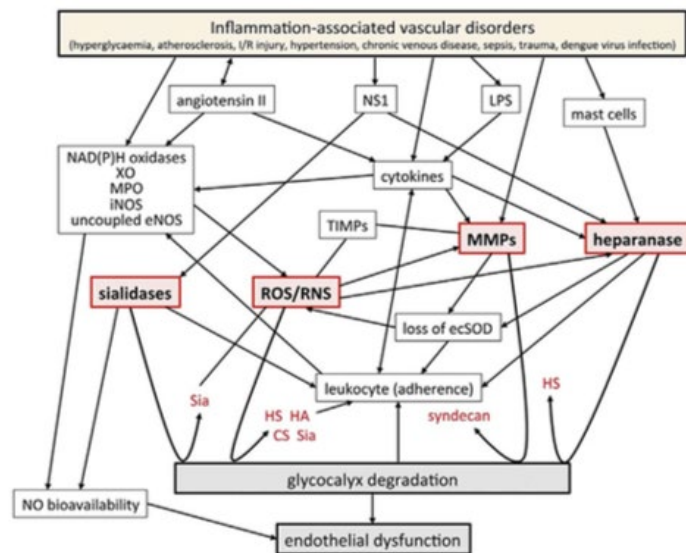
En la actualidad, estudios sobre el efecto del monosacárido terminal (SIA) sobre glucanos unidos a oxígeno y nitrógeno de glicoproteínas y sobre glicosfingolípidos están tomando importancia. Los SIAS

comprenden una familia de azúcares α -ceto ácidos que contribuyen a la carga negativa de la capa de superficie endotelial y, además, juegan un papel muy importante en la interacción célula – célula y en los procesos de comunicación celular. La sialilación de varios receptores y moléculas de adhesión en la membrana plasmática afecta su capacidad para interactuar con otras macromoléculas, lo que afecta mecanismos de señalización extra e intracelulares, además, los SIAS están involucrados en la regulación de la vía alternativa de la activación del complemento, el tráfico de leucocitos y el control de la activación de las células inmunes. La sialilación de proteínas y receptores de superficie depende de numerosas enzimas que sintetizan SIAS libre de glucosa y que activan o modifican los SIAS, transportan SIAS activadas al aparato de Golgi y las transfieren a glicoproteínas y glicolípidos (sialiltransferasas). Además, las sialidasas desempeñan un papel importante en la patología vascular, en la regulación de la adhesión de células inmunitarias y plaquetas al endotelio. Teniendo en cuenta todos aspectos anteriores, está claro que la multitud de procesos regulados por enzimas moduladoras de SIA y esta molécula en si requieren más investigación, especialmente en el sistema vascular, donde regulan procesos fundamentales en patología vascular. (3-5)

Además, relacionando de forma indirecta con las alteraciones de la estructura del glicocáliz, los mediadores inflamatorios también pueden aumentar el ancho de la unión endotelial y, en algunos casos,

inducir orificios transcelulares parafuncionales, asociados con una mayor permeabilidad, como se ha demostrado tanto en modelos animales como en humanos con diabetes. El daño mediado por la hiperglucemia a los podocitos puede dar como resultado una reducción de la producción del factor de crecimiento endotelial vascular, lo que conduce a la disfunción glomerular de las células endoteliales y posiblemente también a la disrupción del glicocáliz. (4)

Fig. 3. Mediadores de la degradación del glicocáliz en los trastornos vasculares asociados a la inflamación.



Tomado de: Irina Sieve, Anja K Münster-Kühnel. Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases. Elsevier Vascular pharmacology 100 (2018) 26-33.

Estrategias terapéuticas dirigidas a evitar el daño del glicocáliz

De acuerdo a todos los procesos que hemos citado que desencadenan daño del glicocáliz, podemos esperar que la inhibición de algunos de ellos pueda frenar el daño endotelial. Dada la importancia de mantener una estructura endotelial intacta, se han desarrollado algunos estudios para promover la integridad del glicocáliz, sin embargo, la mayoría de estos trabajos no se han realizado en humanos, así que se requieren más estudios que demuestren acciones reales para evitar el daño del glicocáliz con el objetivo de mejorar la patología vascular desde su esencia. (3)

Se ha demostrado que la restauración completa del espesor del glicocáliz después de sufrir daño agudo estructural por citoquinas y enzimas, requiere alrededor de 7 días. (7)

Estudios en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 han demostrado que la administración oral de GAG de bajo peso molecular en forma de sulodexide que es una mezcla de 82% de heparina 17% de DS y <1% de CS, restauró el espesor del glicocáliz mediante la inhibición de la heparanasa y la actividad de MMP-9, después de 8 semanas de tratamiento, además, sulodexide posee actividad antitrombótica, profibrinolítica, vasculoprotectora y efectos benéficos sobre la resistencia a la insulina en estudios preclínicos, no se han reportado hasta el momento efectos adversos en pacientes diabéticos hasta los 12 meses de uso, convirtiéndolo en un fármaco bastante prometedor.(3)

Otra terapéutica toma en cuenta a los glucocorticoides por su acción antiinflamatoria, en especial la hidrocortisona ya que cumple un papel protector, preservando la integridad del glicocáliz, sin embargo, su mecanismo de acción en este ámbito, aún no es claro y se piensa que con el uso de antiinflamatorios más comunes se podría tener el mismo resultado y sin los efectos secundarios característicos de este tipo de fármacos. (3)

La antitrombina III es un inhibidor fisiológico de las serina proteasas, como la trombina y la elastasa, esta sustancia, no solo inhibe las anormalidades de la coagulación, sino que también reduce la respuesta inflamatoria con un mecanismo de acción basado en promover la producción endotelial de prostaciclina al interactuar con glucosaminoglicanos similares a la heparina, una parte vital del glicocáliz endotelial. Esta unión también es fundamental para acentuar su inhibición de la trombina. Además de lo anterior, se ha descubierto que la antitrombina se une fuertemente al glicocáliz, posiblemente, un nivel suficiente dentro del glicocáliz puede obstruir el ataque de proteasas, heparanasa e hialuronidasa, evitando así la diseminación. Estos prometedores resultados claramente justifican una evaluación adicional del glicocáliz como un objetivo terapéutico que se beneficia de la antitrombina III en entornos clínicos. (5)

Otras terapias basadas en el uso de antioxidantes están igualmente en estudio, pero hasta la fecha no existe evidencia convincente en este

sentido, así que se deberán realizar más investigaciones basadas en este enfoque terapéutico para disminuir la permeabilidad vascular. (3) En este sentido, y con las terapéuticas detalladas, observamos que hay un buen enfoque hacia la disminución del daño del glicocáliz que permita un manejo más completo de la patología vascular.

CONCLUSIÓN

Estudios experimentales han demostrado que el glicocáliz es un compartimento intravascular crucial que modula la permeabilidad vascular y alberga una amplia gama de proteínas anticoagulantes y cuya disfunción lleva a la progresión de las enfermedades vasculares como la diabetes, resaltando en su fisiopatología a mediadores involucrados, como el estrés oxidativo, la heparanasa, las hialuronidasas, las MMP y las sialidasas. Estos mediadores también pueden afectarse entre sí y potenciar los efectos perjudiciales.

Actualmente, los datos de estudios experimentales y clínicos sugieren la posibilidad de protección o preservación de glicocáliz por diversos medios. Sin embargo, a pesar de algunos resultados positivos en varios estudios, aún existe escepticismo sobre su uso clínico, dando la necesidad de más estudios con adecuada validez interna y externa basados en los datos actuales, que concluyen que cualquier enfoque terapéutico que mejore la estructura y función del glicocáliz, tendría un buen potencial para prevenir los procesos patológicos relacionados con la inflamación vascular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Raúl Carrillo Esper, Adriana Denise Zepeda Mendoza. Glicocálix. Una estructura a considerar en el enfermo grave. *Rev Asoc Mex Med Crit Ter Int* 2016;30(2):130-136
2. Max Nieuwdorp, Timon W. van Haeften. Loss of Endothelial Glycocalyx During Acute Hyperglycemia Coincides With Endothelial Dysfunction and Coagulation Activation In Vivo. *American Diabetes Association. Diabetes*, vol. 55, february 2006.
3. Irina Sieve, Anja K Münster-Kühnel. Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases. *Elsevier Vascular pharmacology* 100 (2018) 26-33.
4. Hana Kolářová, Barbora Ambrůzová. Modulation of Endothelial Glycocalyx Structure under Inflammatory Conditions. *Mediators of Inflammation*. Volume 2014, Article ID 694312.
5. Michael S. Goligorsky. Vascular endothelium in diabetes. *Am J Physiol Renal Physiol* 312: F266–F275, 2017.
6. Bernhard F. Becker Daniel Chappell. Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential. *Cardiovascular Research*, Volume 87, Issue 2, 15 July 2010, Pages 300–310
7. Xiaohui Zhang, Dong Sun. Endothelial cell dysfunction and glycocalyx – A vicious circle. The address for the corresponding author was captured as affiliation for all authors. Please check if appropriate.

- Matbio(2017).
8. Cochain, C. y Zerneck, A. *Arch. Pflugers - Eur J Physiol* (2017) 469: 485. <https://doi.org/10.1007/s00424-017-1941-y>
 9. M. Viola, E. Karousou, M.L. D'Angelo, P. Moretto, I. Caon, G. Luca, A. Passi, D. Vigetti, Extracellular matrix in atherosclerosis: hyaluronan and proteoglycans insights, *Curr. Med. Chem.* 23 (26) (2016) 2958–2971.
 10. L.M. Cancel, E.E. Ebong, S. Mensah, C. Hirschberg, J.M. Tarbell, Endothelial glycocalyx, apoptosis and inflammation in an atherosclerotic mouse model, *Atherosclerosis* 252 (2016) 136–146.
 11. M. Kurzelewski, E. Czarnowska, A. Beresewicz, Superoxide- and nitric oxide-derived species mediate endothelial dysfunction, endothelial glycocalyx disruption, and enhanced neutrophil adhesion in the post-ischemic guinea-pig heart, *J. Physiol. Pharmacol.* 56 (2) (2005) 163–178.
 12. J.W. Van Teeffelen, J. Brands, E.S. Stroes, H. Vink, Endothelial glycocalyx: sweet shield of blood vessels, *Trends Cardiovasc. Med.* 17 (3) (2007) 101–105.
 13. J.M. Tarbell, M.Y. Pahakis, Mechanotransduction and the glycocalyx, *J. Intern. Med.* 259 (4) (2006) 339–350.

14. R. Kumagai, X. Lu, G.S. Kassab, Role of glycocalyx in flow-induced production of nitric oxide and reactive oxygen species, *Free Radic. Biol. Med.* 47 (5) (2009) 600–607.
15. H. Kolarova, B. Ambrozova, L. Svihalkova Sindlerova, A. Klinke, L. Kubala, Modulation of endothelial glycocalyx structure under inflammatory conditions, *Mediat. Inflamm.* 2014 (2014) 694312.
16. Lennon FE, Singleton PA. (2011) Hyaluronan regulation of vascular integrity. *Am J Cardiovasc Dis* 1:200–213.
17. J.M. Tarbell, L.M. Cancel, The glycocalyx and its significance in human medicine, *J. Intern. Med.* 280 (1) (2016) 97–113.
18. A. Ushiyama, H. Kataoka, T. Iijima, Glycocalyx and its involvement in clinical pathophysiologies, *J. Intensive Care* 4 (1) (2016) 59.
19. H. Kolarova, B. Ambrozova, L. Svihalkova Sindlerova, A. Klinke, L. Kubala, Modulation of endothelial glycocalyx structure under inflammatory conditions, *Mediat. Inflamm.* 2014 (2014) 694312.
20. Curry FE, Adamson RH. Endothelial glycocalyx: permeability barrier and mechanosensor. *Annals of Biomedical Engineering.* 2012;40:828–839.

GLICOCÁLIX ENDOTELIAL COMO BLANCO DE AGRESIÓN DEL FENÓMENO ISQUEMIA REPERFUSIÓN

Montalvo Villagómez Mario Patricio MD. MSc.

Capítulo 3

GLICOCALIX ENDOTELIAL COMO

BLANCO DE AGRESION DEL FENOMENO

ISQUEMIA REPERFUSION.

GLICOCALIX ENDOTHELIAL AS A WHITE

AGGRESSION OF THE PHENOMENUM

ISCHEMIA REPERFUSION.

Montalvo Villagómez Mario Patricio MD. MSc.

*“No te rindas, aún estás a tiempo de alcanzar y comenzar de nuevo,
aceptar tus sombras, enterrar tus miedos,
liberar el lastre, retomar el vuelo.
no te rindas que la vida es eso, continuar
el viaje, perseguir tus sueños.”*
-Mario Benedetti

RESUMEN

El glicocáliz endotelial es una estructura rica en glucosaminoglicanos, proteoglicanos y glucoproteínas que recubre el endotelio de la cara luminal de los vasos sanguíneos, en otras palabras aquella estructura que está en contacto directo con la sangre, razón por la cual se convierte no solo en una estructura de protección del endotelio, sino que a su vez es blanco de agresión de diversos mecanismos fisiopatológicos, entre ellos el fenómeno isquemia/reperfusión, mecanismo este que termina siendo común en gran número de patologías del paciente crítico, tales como infarto cerebral, infarto cardiaco, sepsis, traumatismos mayores,

GLICOCÁLIX ENDOTELIAL COMO BLANCO DE AGRESIÓN DEL FENÓMENO ISQUEMIA REPERFUSIÓN

choque de diverso origen, diabetes, cirugías: cardíaca, trasplante, etcétera. Si bien la gravedad resultante del fenómeno isquemia/reperfusión va a variar entre los distintos tejidos, algo que termina siendo común de este proceso, es la disfunción microvascular, que en el peor de los casos en el paciente crítico conlleva a fallo multisistémico. **Palabras claves:** Glicocáliz, endotelio, isquemia, reperfusión, glucosaminoglicanos (DeCS-BIREME).

SUMMARY

The endothelial glycocalyx is a structure rich in glycosaminoglycans, proteoglycans and glycoproteins that covers the endothelium of the luminal face of blood vessels, in other words that structure that is in direct contact with blood, which is why it becomes not only a structure of protection of the endothelium, but in turn is the target of aggression of various pathophysiological mechanisms, among them the ischemia / reperfusion phenomenon, this mechanism that ends up being common in a large number of pathologies of the critical patient, such as cerebral infarction, cardiac infarction, sepsis, major trauma, shock of different origin, diabetes, surgeries: cardiac, transplant. Although the severity resulting from the ischemia / reperfusion phenomenon will vary among different tissues, something that ends up being common in this process, is microvascular dysfunction, which in the worst case in the critical patient leads to multisystemic failure.

Keywords: Glycocalyx, endothelium, ischemia, reperfusion,

glycosaminoglycans (MESH-NIH).

INTRODUCCIÓN

Si bien el glicocáliz constituye la capa externa que recubre a todas las células del cuerpo humano y que cumple múltiples funciones; en esta revisión nos enfocaremos exclusivamente en el glicocáliz que recubre a las células del endotelio vascular, y no porque el glicocáliz que recubre el resto de células del organismo no sea importante, sino porque el endotelio termina siendo el blanco de agresión de gran cantidad de mecanismos de lesión tisular que afectan al paciente crítico.

Es importante que recordemos que el glicocáliz endotelial constituye la estructura rica en glucosaminoglicanos, proteoglicanos y glucoproteínas que recubre el endotelio de la cara luminal de los vasos sanguíneos, es decir aquella que está en contacto directo con la sangre y por ende sometida a los diferentes mecanismos fisiopatológicos de agresión, se da por entendido que este glicocáliz será el primero en ser agredido y desestructurado por cualquier ataque hacia el endotelio vascular.

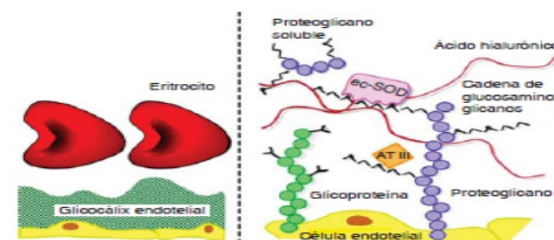


Figura 1. Representación gráfica del glicocáliz mostrando sus componentes principales.

Del lado izquierdo observamos la célula endotelial y cómo el glicocáliz forma esta red que protege del contacto con los eritrocitos. Del lado derecho de la figura se observan los componentes estructurales del glicocáliz, los proteoglicanos, con sus cadenas unidas de glucosaminoglicanos y glicoproteínas, además de componentes solubles unidos como la antitrombina III (ATIII) y proteínas extracelulares, ácido hialurónico y superóxido dismutasa (ec-SOD).

Tomado: Carrillo ER et al. Glicocáliz. Una estructura a considerar en el enfermo grave Rev Asoc Mex Med Crit Ter Int 2016;30(2):132.

Como se acaba de mencionar cualquier mecanismo que altere al glicocáliz ya sea en su estructura como en las funciones que este cumple dará lugar a disfunción endotelial y las consiguientes alteraciones en la microcirculación que evolucionará en el peor de los casos a disfunción multiorgánica. Todo apunta a que esta, es una capa en constante interacción que no solo depende de su propia estructura sino además de su microambiente local (1- 2- 3).

Al hablar de microambiente local tenemos que referirnos de manera inequívoca al oxígeno y glucosa que son la materia prima esencial para el desarrollo de todas las actividades metabólicas de la célula. Siendo en este escenario, donde la supervivencia celular se convierte en una constante inherente al ser humano, donde tenemos que entender que existen un sinnúmero de circunstancias en las cuales los distintos órganos pueden sufrir isquemia, por consiguiente, un inadecuado aporte de oxígeno y glucosa a las células para sus distintas actividades

metabólicas. En este contexto no solo cabe describir el daño que ya de por sí causa la isquemia, sino además el daño subsecuente derivado de la restauración del flujo sanguíneo, fenómeno este conocido como isquemia – reperfusión (4-5).

Si bien la gravedad resultante del fenómeno isquemia/reperfusión varía entre los distintos tejidos, algo que es común de este proceso, es la disfunción microvascular; que termina siendo el resultado de un proceso iniciado por la falta de energía (ATP) fruto de la isquemia, que dará lugar a un sinnúmero de procesos bioquímicos con alteración de la concentración de calcio intracelular que incrementará el estrés oxidativo, con falla de los mecanismos de transporte celular por desestructuración de su citoesqueleto, generación de formas reactivas de oxígeno, alteración de la permeabilidad celular y finalmente perpetuado y potenciado por la reperfusión teniendo como intermediario a las especies reactivas de oxígeno, que provocaran mayor desestructuración del glicocáliz y del endotelio, provocando una mayor expresión de moléculas de adhesión leucocitaria, activación del complemento, secreción de citoquinas que determinarán como resultado final destrucción celular, con la consiguiente disfunción microvascular (6- 7- 8- 9).

Algo que debemos tener muy claro es que el fenómeno isquemia/reperfusión, es un mecanismo que termina siendo común en gran número de patologías del paciente crítico, tales como infarto cerebral,

infarto cardiaco, sepsis, traumatismos mayores, choque de diverso origen, diabetes, cirugías: cardíaca, trasplante, etcétera. Por tal motivo el reconocerlo, y tener claro su mecanismo fisiopatológico nos permitirá actuar de manera correcta al momento de enfrentarlo. (4-10)

MECANISMOS QUE INTERVIENEN EN LA ISQUEMIA/ REPERFUSION

Durante la isquemia mantenida cualquiera sea la causa desencadenante se producen cambios bioquímicos dados por la deficiencia de ATP, esto explicado por el paso de un metabolismo aerobio dependiente de oxígeno a través del ciclo de Krebs que produce 36 moléculas de ATP, a un metabolismo anaerobio con apenas producción de 2 moléculas de ATP, como podrá notarse con un déficit grande de producción de energía, que resulta ser insuficiente para cubrir las necesidades metabólicas de la célula (11-13-14). Si este mecanismo de isquemia se perpetúa, conducirá de manera inevitable hacia la muerte celular.

- **Mecanismos fisiopatológicos del daño por isquemia/reperfusión:** El desencadenante del proceso será dado por deficiencia de ATP que generará los siguientes procesos bioquímicos:

1. **Incremento del calcio (Ca++) intracelular :** Los sistemas de transporte de membrana están totalmente alterados, puesto que el incremento del calcio provoca disminución en la actividad de

las (Na^+ , K^+ , H^+ , Ca^{++}) ATPasas, provocando despolarización de la membrana celular, esto ocasiona acumulación de Ca^{++} dentro de la célula ya sea por su liberación a partir de sus sitios de depósito a nivel mitocondrial y del retículo endoplásmico, así como por incremento de su recaptación hacia sus sitios de depósito, este incremento del calcio intracelular conlleva a que los sistemas citoplasmáticos enzimáticos se activen atípicamente con la consiguiente generación de mediadores de inflamación (15-17). A nivel mitocondrial el calcio incrementado induce edema mitocondrial lo cual se expresará con desacople de la fosforilación oxidativa y por ende menor producción de ATP (76). A la par se activan 2 grupos de proteasas dependientes de calcio: las calpainas y las caspasas, estas últimas directamente relacionadas en el proceso de apoptosis y muerte celular. (18). Como consecuencia del mal funcionamiento de los sistemas de transporte a través de la membrana se provoca un desequilibrio en la homeostasia de los iones Na^+ , K^+ y Ca^{++} , lo que genera inhibición del potencial de membrana, con la consiguiente generación edema celular producto de alteración de la permeabilidad. El Ca^{++} intracelular incrementado activa enzimas como la fosfolipasa, proteasas, endonucleasas que en última instancia provocarán lisis de las membranas celulares (16). Este daño de la membrana citoplasmática con

desestructuración y lisis, es un punto sin equanón en la isquemia irreversible pues de manera inevitable evolucionará a muerte y necrosis celular (12-21).

2. **Generación de especies reactivas de oxígeno (RLO):** Estos van a generarse como resultado de la desestructuración del citoesqueleto de la membrana lo que determina la acumulación de adenosina y de sus productos de degradación tales como nucleótidos de adenosina, xantina, hipoxantina; papel importante desempeña en este punto la rápida conversión de xantina deshidrogenasa en xantina oxidasa, pues estas enzimas serán las encargadas de la transformación de la hipoxantina en xantina, y de la xantina en ácido úrico. La xantina deshidrogenasa utiliza NAD^+ como cofactor, mientras que la xantina oxidasa utiliza oxígeno generando una producción masiva de anión superóxido, peróxido de hidrógeno durante la reperfusion (19). Fuentes adicionales de generación de especies reactivas de oxígeno constituyen: 1) la cadena transportadora de electrones en el complejo III de esta cadena 2) los macrófagos a través de la actividad de la NADPH oxidasa (20). Una vez generados los RLO se convierten en mediadores cuyo papel es crucial en la lesión generada por el fenómeno isquemia / reperfusion (26). Estas especies reactivas de oxígeno actúan directamente sobre el glicocáliz y por ende

sobre el endotelio vascular, provocando la peroxidación de los componentes del glicocáliz así como de los lípidos de membrana del endotelio, condicionando incremento dentro de la célula de las concentraciones de calcio, lo que determinará que las proteasas no específicas y fosfolipasas (Fosfolipasa A2) se activen, dando lugar a mayor disfunción de la membrana celular por aumento de la permeabilidad y edema celular; esto como consecuencia de la liberación de sustancias químico atrayentes para los leucocitos entre las cuales podemos mencionar a los metabolitos derivados del ácido araquidónico (28-29). Finalmente, también se podría mencionar que estas especies reactivas de oxígeno también actúan de manera directa a nivel del DNA provocando mutaciones con alteración de los sistemas enzimáticos lo que contribuye con el incremento en la generación de citocinas y óxido nítrico, las que, a su vez, aumentarán la producción de más especies reactivas de oxígeno perpetuando y potenciando así el daño (27-30-31).

3. **Activación y acumulación de los neutrófilos y células fagocíticas en el tejido postisquémico:** Lo cual provoca disfunción microvascular reflejado en el incremento de la permeabilidad vascular a las proteínas, la misma que está en relación directa al grado de acumulación de neutrófilos en el tejido luego de la reperfusión, por lo que se considera que estas

células son mediadores primarios del daño ejercido sobre el endotelio y por ende sobre el glicocáliz que lo recubre (23- 32). Durante la reperfusión, se generarán productos de inflamación como consecuencia de esta activación leucocitaria; a saber: interleucina-1 (IL-1), interferón-gama (IFN-gama), factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) y el factor activador de plaquetas (PAF), productos estos que actúan favoreciendo la adhesión de los leucocitos al endotelio vascular, potenciando el daño ejercido por el proceso de inflamación (25).

4. **Activación del complemento:** Esto contribuiría a potenciar el daño de dos maneras: 1) directa, por formación del complejo de ataque de membrana, 2) indirecta, estimulando la producción de citoquinas proinflamatorias y la migración y adhesión de leucocitos (35). Los factores C3a, C5a, iC3b y C5b-9 se podrían mencionar entre los más importantes (33-34).
5. **El óxido nítrico ($\cdot\text{NO}$):** En la isquemia / reperfusión el óxido nítrico ejerce un efecto protector sobre el endotelio lo cual parecería estar mediado por su efecto vasodilatador así como por la generación de señales que inhiben la expresión de moléculas de adhesión celular (CAMs) en especial selectina E a nivel endotelial (4- 36- 37). Cabe también mencionar el papel que el óxido nítrico tiene en el proceso de muerte celular programada o apoptosis, en concentraciones normales la inhibe

por inactivación vía nitrosilación de la caspasa 3. Y cuando se encuentra en concentraciones elevadas en cambio estimula la apoptosis vía producción de peroxinitrito lo cual provoca alteración en la permeabilidad mitocondrial con liberación de citocromo c y daño del ADN con activación de PARS [poly (ADP-ribose) synthase] (4- 37).

6. **Cambios en la microcirculación:** Lo cual va a ser el resultado final de los 5 mecanismos antes descritos. Que para efecto didáctico los resumiremos: 1) desbalance entre mediadores vasoconstrictores y vasodilatadores , 2) sobreexpresión de moléculas de adhesión celular (CAMs) en la superficie endotelial, en especial selectina E, 3) activación y migración de neutrófilos circulantes que se unen al endotelio vascular. Estos determinarán incremento de la permeabilidad vascular con el consiguiente edema celular, mayor migración y acumulación de neutrófilos en los tejidos isquémicos que en definitiva provocan destrucción del tejido local provocando obstrucción de tipo mecánico al flujo durante la reperfusión, lo que se conoce como el fenómeno de “no reflujo”(22). Posteriormente, durante la reperfusión, puede también exacerbarse este daño isquémico “reflow paradox” (24). En la figura 2 se podrá observar en forma resumida los mecanismos antes descritos

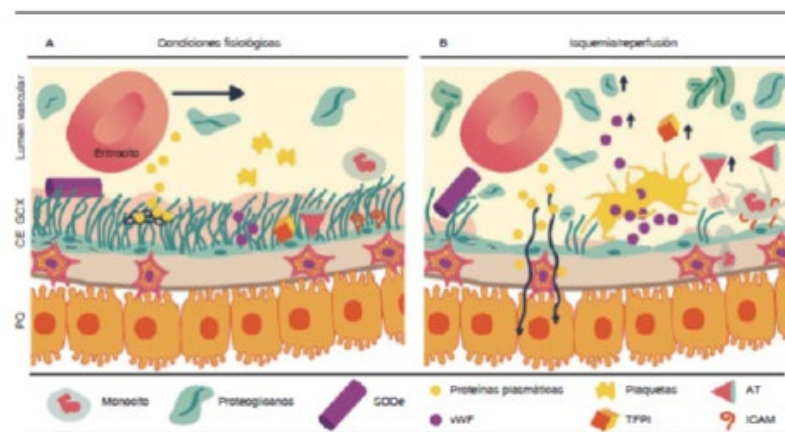


Figura 2. El glicocáliz (GCX) en condiciones fisiológicas y fisiopatológicas inducidas por isquemia/reperfusión.

A) Funciones protectoras del GCX, que incluyen: mantener la homeostasis y el tono vascular, regulando fuerzas mecánicas como el estrés y cizallamiento que conducen a la liberación de óxido nítrico (NO) por las células endoteliales; actuar como barrera antioxidante al unirse a la enzima superóxido dismutasa extracelular (SOD); limitar el acceso de macromoléculas a través de la membrana endotelial; inhibir vías procoagulantes mediante la antitrombina (AT) y el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI); y contrarrestar la inflamación al inhibir la expresión de ligandos de leucocitos como las moléculas de adhesión vascular (VCAM) y las moléculas de adhesión intercelular (ICAM). **B)** Degradación oxidativa del GCX: durante la isquemia/reperfusión, se transforma el endotelio en una superficie pro inflamatoria. Se altera la producción de NO, lo que resulta en vasoconstricción y daño oxidativo. Se pierde el balance oncótico por la extravasación de macromoléculas, y ocasiona edema. Se exponen moléculas de adhesión VCAM/ICAM y factor de von Willebrand (vWF), que inducen agregación plaquetaria y migración leucocitaria. PQ = parénquima; CE = células endoteliales.

Tomado: Carrillo ER et al. Glicocáliz. Una estructura a considerar en el síndrome grave. *Rev Asoc Mex Med Crit Ter Int* 2016;30(2):135.

IMPLICACIONES CLÍNICAS Y ENFOQUE TRASLACIONAL

En la actualidad el papel del glicocáliz ha tomado importancia y mayor interés al ser reconocido como componente fundamental del endotelio vascular con funciones específicas que le confieren el ser reconocido como la capa de protección del endotelio, y que por estar en contacto directo con la sangre se convierte en blanco del daño secundario inducido por la isquemia/reperfusión (38-40-41). Por tal motivo es comprensible que cualquier agresión que provoque disrupción o alteración de su estructura determine efectos verdaderamente

perjudiciales que ponen en riesgo no solo a esta estructura sino al endotelio con todas las implicaciones que tiene el daño endotelial para el correcto funcionamiento de los tejidos, en este contexto se está poniendo énfasis en promover investigaciones tanto clínicas como experimentales, que permitan profundizar en el conocimiento glicocáliz y todas las alteraciones derivadas tras el proceso de isquemia / reperfusión (38-42-43).

Todas estas investigaciones se están dando no solo en miras de entender el proceso fisiopatológico sino además en buscar la forma de que este glicocáliz pueda ser protegido o en su defecto restaurado en el caso de ya haber sido dañado.

Estudios in vitro han demostrado que el estrés oxidativo parece afectar directamente la estructura del glicocáliz, provocando pérdida de algunos de sus componentes lo que determina disfunción de esta estructura (1- 48).

Estudios experimentales concluyeron que la isquemia causa desgaste del glicocáliz. Lo cual pudo ser comprobado en cobayos mediante mediciones realizadas con microscopia electrónica donde fue evidente la disminución del grosor de esta estructura, en tanto en seres humanos se ha procedido a medir ciertos componentes del glicocáliz en sangre arterial, evidenciándose un incremento considerable de las concentraciones de sindecano-1 y heparán sulfato, en pacientes que fueron sometidos a bypass cardiopulmonar durante cirugía de aorta,

otras circunstancias en las cuales se observaron los mismos resultados fue en la reperfusión y en la isquemia regional cardiopulmonar e infrarrenal (1- 49).

Este resultado nos permite plantearnos una pregunta: ¿Será que los niveles o concentraciones sanguíneas de glucosaminoglicanos (sindecano-1 y el heparán sulfato) nos permite determinar la severidad del daño endotelial? Tal vez la respuesta a esta pregunta nos permita usarlo como determinante temprano de daño endotelial y de esta manera prevenir los daños subsecuentes evitando llegar a la disfunción multiorgánica. De ser afirmativa la respuesta, la siguiente pregunta de cajón debe ser encaminada a ¿Qué se debe hacer? o ¿Qué se debe usar? para prevenir el daño del glicocáliz. En el futuro cercano probablemente tendremos respuesta a estas interrogantes pues ya se está trabajando en algunos compuestos que permitan restaurar el glicocáliz dañado en ciertas patologías específicas. Se ha experimentado ya con la sulodexina con resultados sumamente alentadores pues se logró restauración del glicocáliz, lo que muy posiblemente se vio reflejado en resultados específicos como fueron reducción de la isquemia, reducción del área de infarto, reducción del depósito de proteína C reactiva y de moléculas de adhesión (MAC) en el miocardio afectado (1- 50- 51). Por otro lado, la degradación del glicocáliz aumenta la superficie de adhesión de moléculas así como la adhesión de neutrófilos. Por este motivo, la protección del glicocáliz

debería disminuir la expresión de moléculas de adhesión, así como la acumulación de los neutrófilos (38- 46).

En los últimos años, se ha propuesto que el preconditionamiento anestésico (PCA) podría ejercer efectos protectores frente al daño por isquemia-reperfusión en diversos órganos como el corazón, riñón, hígado y cerebro (38-47). Se ha sometido a investigación la posible influencia sobre el glicocáliz de los anestésicos locales, llegando a la conclusión que el uso de lidocaína previene el daño del glicocáliz secundario a la isquemia/reperfusión. Por ello, la administración de lidocaína podría ser potencialmente beneficiosa. (38- 39- 44- 45).

Como podemos darnos cuenta mientras más avanzamos en el conocimiento molecular de los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad se nos abren nuevas puertas con expectativas terapéuticas innovadoras que un futuro no muy lejano podrían darnos soluciones a muchas de las patologías que nos aquejan.

CONCLUSIONES

- El glicocáliz endotelial termina siendo el blanco de agresión del fenómeno isquemia reperfusión lo que determina disfunción del mismo, con alteración del citoesqueleto de la membrana celular que provocará alteraciones de la concentración del calcio, generación de formas reactivas del oxígeno como son el peróxido y subperóxido, disfunción de la microvasculatura, incremento de adhesión de leucocitos y células fagocitarias, activación del

complemento, secreción de citoquinas mecanismos estos que de perpetuarse conducirán de manera irreversible hacia la muerte celular, y en el peor de los casos a disfunción multiorgánica.

- El fenómeno isquemia / reperfusión termina siendo el mecanismo fisiopatológico que comparten un gran número de patologías de tal manera que se vuelve imperativo ahondar en el conocimiento de este fenómeno y su repercusión en el glicocáliz endotelial, en miras a instaurar terapéuticas dirigidas a la protección y restauración de esta capa, que permita cortar el ciclo de daño y muerte celular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Frati-Munari, Alberto C. 2013. Importancia médica del glucocáliz endotelial. Arch Cardiol Mex; 83(4):303---312.
2. Nieuwdorp M, Meuwese MC, Vink H, et al. 2005. The endothelial glycocalyx: A potential barrier between health and vascular disease. Curr Opin Lipidol; 16:507---11.
3. Becker BF, Chappell D, Bruegger D, et al. 2010. Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: Acute deficits, but great potential. Cardiovasc Res; 87:300---10.
4. Romanque U, Pamela., Mario Uribe M, Luis A Videla. 2005. Mecanismos moleculares en el daño por isquemia-reperfusión hepática y en el pre acondicionamiento isquémico. Rev Méd Chile; 133: 469-476.

5. TEOH N, DELA PENA A, FARELL G. 2002. Hepatic ischemic preconditioning in mice is associated with activation of NF- κ B, p38 kinase, and cell cycle entry. *Hepatology*; 36: 94-102.
6. Carrillo Esper, Raúl., Adriana Denise Zepeda Mendoza, Oscar Iván Flores Rivera, Alejandro Díaz Girón Gidi, Itzel Monserrat González Martínez, Diego Araiza Garaygordobil. 2016. Glicocálix. Una estructura a considerar en el enfermo grave. *Rev Asoc Mex Med Crit Ter Int*; 30(2):130-136.
7. Lin X. 2004. Functions of heparan sulfate proteoglycans in cell signaling during development. *Development*; 131:6009-6021
8. Granger DN. 1999. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation*; 6:167-1
9. Kurose I, Argenbright LW, Wolf R, Lianxi L, Granger D. 1997. Ischemia/ reperfusion-induced microvascular dysfunction: role of oxidants and lipid mediators. *Am J Physiol*; 272:2976-2982.
10. Ramirez P, Marín JM, Piñero A, Chavez-Cartaya R, Parrilla P. 2000. Investigación experimental aplicada a la clínica: isquemia-reperfusión hepática. *Cir Esp*; 67: 281-91.
11. Kennedy, S. E. & Erlich, J. H. 2008. Murine renal ischaemia-reperfusion injury. *Nephrology Carlton, Vic* 13, 390-396.
12. Kosieradzki, M. & Rowinski, W. 2008. Ischemia/reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and prevention. *Transplantation*

- proceedings* 40, 3279-3288
13. Rich, P. R. 2003. The molecular machinery of Keilin's respiratory chain. *Biochemical Society transactions* 31, 1095-1105.
14. Gourdin, M. J., Bree, B. & De Kock, M. 2009. The impact of ischaemia-reperfusion on the blood vessel. *European journal of anaesthesiology* 26, 537-547.
15. Akcay, A., Nguyen, Q. & Edelstein, C. L. 2009. Mediators of inflammation in acute kidney injury. *Mediators of inflammation* 2009, 1370-72.
16. Devarajan, P. 2006. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 17, 1503-1520.
17. Garcia-Criado, F. J. et al. 1998. Protective effect of exogenous nitric oxide on the renal function and inflammatory response in a model of ischemia-reperfusion. *Transplantation* 66, 982- 990.
18. Baskin-Bey, E. S. et al. 2007. Clinical Trial of the Pan-Caspase Inhibitor, IDN-6556, in Human Liver Preservation Injury. *Am J Transplant* 7, 218-225.
19. Goligorsky, M. S. 2005. Whispers and shouts in the pathogenesis of acute renal ischaemia. *Nephrol Dial Transplant* 20, 261-266.
20. Chen, Q., Camara, A. K., Stowe, D. F., Hoppel, C. L. & Lesnefsky, E. J. 2007. Modulation of electron transport protects cardiac mitochondria and decreases myocardial injury during ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Cell Physiol* 292, C137-147.

21. Molitoris, B. A. & Sutton, T. A. 2004. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure. *Kidney international* 66, 496-499.
22. Galiuto, L. & Crea, F. 2006. No-reflow: a heterogeneous clinical phenomenon with multiple therapeutic strategies. *Current pharmaceutical design* 12, 3807-3815.
23. Le Dorze, M., Legrand, M., Payen, D. & Ince, C. 2009. The role of the microcirculation in acute kidney injury. *Current opinion in critical care* 15, 503-508.
24. Menger, M. D., Pelikan, S., Steiner, D. & Messmer, K. 1992. Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "reflow paradox". *The American journal of physiology* 263, H1901-1906.
25. Bonventre, J. V. & Zuk, A. 2004. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? *Kidney international* 66, 480-485.
26. Ma, A., Qi, S. & Chen, H. 2008. Antioxidant therapy for prevention of inflammation, ischemic reperfusion injuries and allograft rejection. *Cardiovascular & hematological agents in medicinal chemistry* 6, 20-43.
27. Zweier, J. L. & Talukder, M. A. 2006. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovascular research* 70, 181-190.
28. Hao, C. M. & Breyer, M. D. 2007. Roles of lipid mediators in kidney injury. *Seminars in nephrology* 27, 338-351.

29. Hao, C. M. & Breyer, M. D. 2007. Physiologic and pathophysiologic roles of lipid mediators in the kidney. *Kidney international* 71, 1105-1115.
30. Legrand, M., Mik, E. G., Johannes, T., Payen, D. & Ince, C. 2008. Renal hypoxia and dysoxia after reperfusion of the ischemic kidney. *Molecular medicine (Cambridge, Mass)* 14, 502-516.
31. Cunningham, P. N. et al. 2002. Acute renal failure in endotoxemia is caused by TNF acting directly on TNF receptor-1 in kidney. *J Immunol* 168, 5817-5823.
32. Jo, S. K., Sung, S. A., Cho, W. Y., Go, K. J. & Kim, H. K. 2006. Macrophages contribute to the initiation of ischaemic acute renal failure in rats. *Nephrol Dial Transplant* 21, 1231-1239.
33. Arumugam, T. V. et al. 2006. Complement mediators in ischemia-reperfusion injury. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 374, 33-45.
34. Farrar, C. A., Zhou, W., Lin, T. & Sacks, S. H. 2006. Local extravascular pool of C3 is a determinant of postischemic acute renal failure. *Faseb J* 20, 217-226.
35. Thurman, J. M. et al. 2006. Altered renal tubular expression of the complement inhibitor Crry permits complement activation after ischemia/reperfusion. *The Journal of clinical investigation* 116, 357-368.
36. IGNARRO LJ. 1996. Physiology and pathophysiology of nitric

- oxide. *Kidney Internat*; 55 (Suppl): S2-S5.
37. CLEMENS MG. 1999. Nitric oxide in liver injury. *Hepatology*; 30: 1-5.
38. Carlos Alberto Calvo García. Aida Izquierdo. Celia Muñoz. 2014. Preservación por lidocaína del glicocáliz endothelial contra el fenómeno de isquemia-reperfusión en un modelo de autotrasplante pulmonar Reduca (Recursos Educativos). Serie Congresos Alumnos. 6 (4): 76-81, ISSN: 1989-5003
39. Casanova et al. 2011. The effects of anesthetic preconditioning with sevoflurane in an experimental lung autotransplant model in pigs. *Anesthesia and Analgesia*.; 113(4):742-748.
40. Mulivor et al. 2004. Inflammation- and ischemia-induced shedding of venular glycocalyx. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*; 286(5):H1672-H1680.
41. Anneke et al. 2010. Sevoflurane preserves the endothelial glycocalyx against ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Anesthesia*; 104 (4):414-421.
42. Mulivor et al. 2002. Role of glycocalyx in leukocyte-endothelial cell adhesión. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*; 283:H1282-H1291.
43. Rubio-Gayosso et al. 2004. Reactive oxygen species mediate modification of glycocalyx during ischemia-reperfusion injury. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*; 283:H1672-H1680.
44. Huerta et al. 2013. Ischaemic preconditioning prevents the liver

- inflammatory response to lung ischaemia/reperfusion in a swine lung autotransplant model. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*; 43:1194-1201.
45. Garutti et al. 2014. Anesthesia and Analgesia. En Prensa.
46. Anna Sebestyén et al. 2000. Cytokine regulation of syndecan expression in cells of liver origin. *Cytokine*; 12 (10): 1557–1560.
47. Montefort S. et al. 1991. Adhesion molecules and their role in inflammation. *Respir. Med*; 85:91-9.
48. Moseley R, Waddington RJ, Embery G. 1997. Degradation of glycosaminoglycans by reactive oxygen species derived from stimulated polymorfonuclear leukocytes. *Biochem Biophys Acta*; 1362:221---31.
49. Rehm M, Bruegger D, Christ F, et al. 2007. Shedding of the endothelial glycocalyx in patients undergoing major vascular surgery with global and regional ischemia. *Circulation*.; 116:1896---906.
50. Barret TD, Hennan JK, Marks RM, et al. 2002. C-reactive-protein associated increase in myocardial infarct size after ischemia/reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther*; 303:1007---13.
51. Mellbin LG, Bjerre M, Thiel S, et al. 2012. Complement activation and prognosis in patients with type 2 diabetes and myocardial infarction. A report from DIGAMI 2 trial. *Diabetes Care*.; 35:911---7.

ROL DEL GLICOCÁLIX EN LA ATEROSCLEROSIS.

Santiago Aguayo Moscoso. MD

Capítulo 4

ROL DEL GLICOCÁLIX EN LA ATEROSCLEROSIS ROLE OF GLYCOCALYX IN ATHEROSCLEROSIS

Santiago Aguayo Moscoso. MD

“Dos obstáculos hay, principalmente, que dificultan el conocimiento: la vergüenza, que en gran manera eclipsa la inteligencia, y el miedo, que, presentando el peligro, disuade de acometer las empresas arriesgadas”.
-“Elogio de la locura” de Erasmo de Rotterdam.

RESUMEN

La importancia del glicocáliz endotelial para la homeostasis vascular es evidente. Es la interfaz entre la sangre y los componentes solubles dentro de la capa superficial endotelial. La aterosclerosis es propensa a formarse cuando existe un daño endotelial. Restaurar el glicocáliz, sería un potencial tratamiento temprano de la enfermedad cardiovascular. En el paciente crítico, existen además otras condiciones que repercuten en la funcionalidad del glicocáliz, es por ello que los pacientes con aterosclerosis tienen un factor más para incrementar la morbi-mortalidad.

Palabras claves: Glicocáliz, aterosclerosis, endotelio. (DeCS-BIREME).

ABSTRACT

The importance of the endothelial glycocalyx for vascular homeostasis is evident. It is the interface between blood and soluble components

within the superficial endothelial layer. Atherosclerosis is prone to form when there is endothelial damage. Restoring the glycocalyx would be a potential early treatment of cardiovascular disease. In the critical patient, there are also other conditions that affect the functionality of the glycocalyx, which is why patients with atherosclerosis have one more factor to increase morbidity and mortality.

Keywords: glycocalyx, atherosclerosis, endothelium. (MESH-NIH)

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades isquémicas del corazón y las enfermedades cerebrovasculares son la primera y la cuarta causa de mortalidad en Ecuador en 2016, respectivamente (1). El desencadenante es la ateroescclerosis, porque existe un daño y disfunción del endotelio vascular. Tanto la aterogénesis como la disfunción endotelial coinciden con la pérdida del glicocáliz que cubre la pared endovascular (2).

GLICOCÁLIX: QUÉ ES Y SUS COMPONENTES

El glicocáliz es una cobertura que separa la sangre y el endotelio. Está formado por glicoproteínas, proteoglicanos (sindecanos y glipicano-1) y glicosaminoglucanos (GAG) que son: heparán sulfato (HS), condroitín sulfato (CS), dermatán sulfato (DS), ácido hialurónico. El HS, tiene cuatro miembros de sindecanos: (-1, -2, -3, -4). Este glicocáliz, interacciona con los componentes del plasma y forma

una capa activa fisiológica. Se ha determinado, a través de estudios experimentales, que el espesor del glicocáliz, mide de 0.02 a 8.9 μm in vivo, en cambio in vitro mide hasta 3 μm (3,4). Este es un breve resumen de los componentes del glicocáliz. Veamos, como se forma la placa ateromatosa.

FISIOPATOLOGÍA DE LA ATEROESCLEROSIS

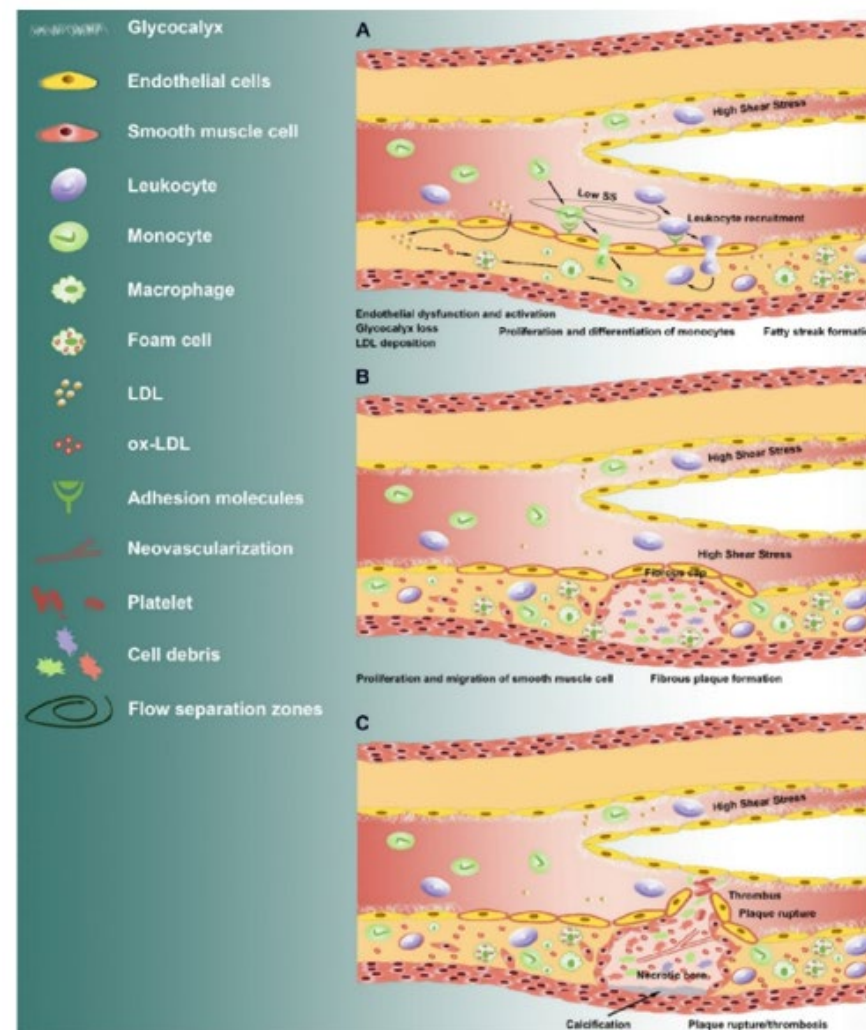
Una vez que existe daño en el endotelio, ocurre una respuesta inflamatoria, en la cual el sistema inmune reacciona a estímulos que comentaremos más adelante. En circunstancias crónicas, la inflamación de la vasculatura es un factor importante para el desarrollo de la ateroescclerosis (3, 5, 6).

Cuando hay un deterioro a nivel endotelial, las moléculas de adhesión (VCAM-1, ICAM-1, P-selectina, PSGL-1) se localizan en la superficie y facilitan que tanto los monocitos como los linfocitos T se peguen en estos sitios y se introduzcan a nivel de la capa íntima. Los monocitos se diferencian y proliferan a macrófagos en donde existen receptores CD36 clase B. Las lipoproteínas de baja densidad que circulan por el torrente sanguíneo, también atraviesan el endotelio, se convierten en LDL oxidada (LDLox), son digeridas por los macrófagos (que se transforman en células espumosas) y luego tras sufrir apoptosis, liberan LDLox. Por otro lado, las células endoteliales, experimentan apoptosis y necrosis llevando a la formación de un núcleo, una zona desestabilizadora rica en lípidos. Las células musculares lisas

proliferan y migran, formando una capa fibrosa sobre el núcleo necrótico. Mientras crece la placa, causa estenosis (llevando a condiciones hipóxicas) y aumenta la tensión cizallante (de esto hablaremos más adelante). Establecida la placa aterosclerótica, puede crecer o romperse y desencadenar problemas como síndrome coronario agudo (SCA) o enfermedad cerebrovascular (ECV) (7-9). (Figura 1).

Figura 1. Formación de la placa aterosclerótica.

Tomado de Zeng Y. 2017 (3).



¿QUÉ CAUSA LA LESIÓN DEL GLICOCÁLIX?

Se han determinado algunos factores que lesionan al glicocáliz. Dentro de estos, podemos mencionar (2, 10):

- Lesión directa
- Flujo turbulento
- Hiperglicemia
- Circulación de radicales libres
- Incremento de LDL
- Hipertensión
- Toxinas y/o deterioro del sistema del óxido nítrico

Como podemos ver, existen múltiples condiciones que, de una u otra manera, alteran al glicocáliz. En este capítulo, nos enfocaremos como la lesión directa y el flujo turbulento, intervienen en esta interrelación entre el glicocáliz y la aterosclerosis.

Para comprender el efecto de la aterosclerosis en el endotelio, hay que recordar un poco de fisiología: los patrones de flujo sanguíneo.

PATRONES DE FLUJO SANGUÍNEO

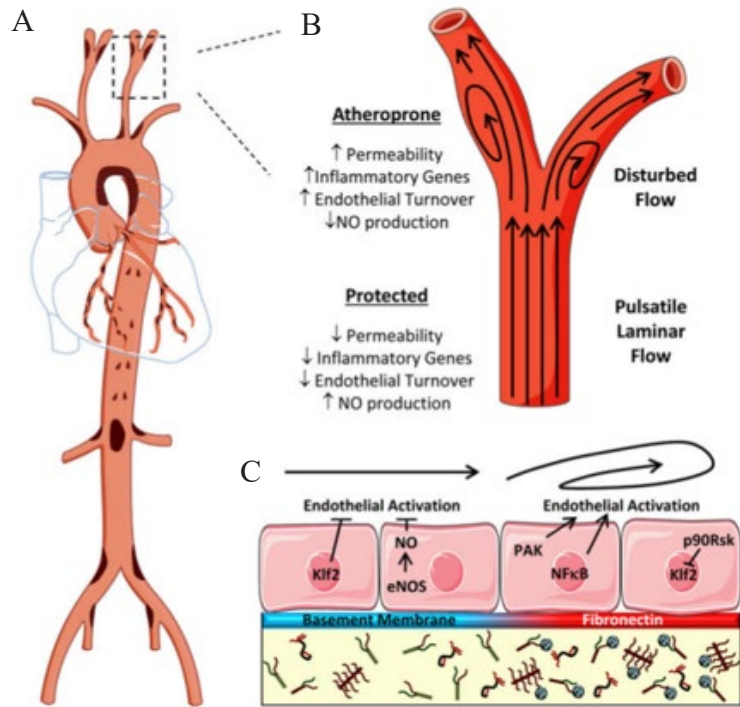
Cuando el flujo sanguíneo se mantiene en equilibrio a través de un vaso sanguíneo largo y liso, presenta un tipo de flujo que se denomina: laminar. En cambio, el flujo turbulento es el que transcurre en todas las direcciones del vaso y se mezcla continuamente en su interior. Cuando la velocidad del flujo sanguíneo es demasiado grande, como cuando atraviesa una obstrucción en un vaso, hace un giro brusco o pasa sobre

una superficie rugosa, el flujo puede volverse turbulento y se forman espirales que se denominan corrientes en torbellino, que aumentan mucho la fricción global del flujo en el vaso (11).

En este punto, hay que recordar una característica importante del endotelio, que es la capacidad de sensar las variaciones y cambios hemodinámicos (además de los bioquímicos). Así, las células endoteliales tienen la facultad de realizar modificaciones morfológicas y funcionales de acuerdo a sus requerimientos, efectuando actividades de angiogénesis, homeostasis, o tareas vasomotoras (12).

Cuando existen flujos sanguíneos continuos, el endotelio está protegido y funciona adecuadamente dependiendo de la expresión del glicocáliz, por lo que permite la síntesis del óxido nítrico (ON), un conocido vasodilatador. Sin embargo, en flujos caóticos en donde las células endoteliales están expuestas, existe predisposición a la aterogénesis, porque se modifica la producción de ON, afectando a la función de barrera, así como también a la comunicación intercelular (2, 10, 13, 14). (Figura 2)

Figura 2. Activación endotelial mecánica y de la matriz



A. Esquema de los sitios de formación de las placas ateroscleróticas.

B. Asociación de los patrones de flujos a nivel endotelial. **C.**

Mecanismo de la activación endotelial debido a cambios en los patrones de flujo. Tomado de Yurdagul Jr. 2016 (10).

Ahora vamos analizar diversos factores que deterioran el glicocáliz, y cómo cada uno de ellos, está relacionado con el desarrollo de la aterosclerosis.

Estos determinantes son:

a. Fuerzas de cizallamiento

b. Esfingosina-1-fosfato (S1P)

c. Permeabilidad endotelial

d. Comunicación intercelular

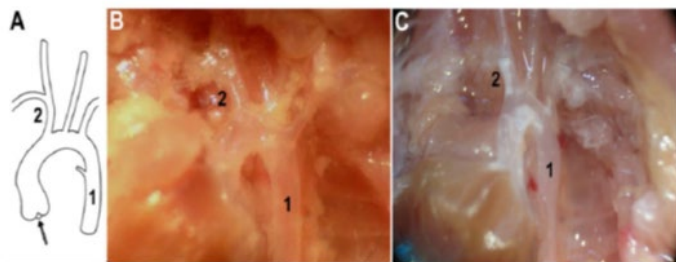
e. ON

a. Fuerzas de cizallamiento

El glicocáliz es un mécano-sensor y transductor de las fuerzas de cizallamiento. Las señales se traducen a óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) a través del HS y en respuesta al flujo sanguíneo se regula la síntesis de ON. Cuando disfunciona el glicocáliz, el mecanismo dominante es la falla en la expresión de la eNOS y, por lo tanto, la falta de producción del ON (3, 10).

En nuestro organismo, existen sitios susceptibles al desarrollo de aterosclerosis, como en las curvaturas o bifurcaciones (por ejemplo, en el arco aórtico o carótideo). En el estudio realizado por Cancel (2), un grupo de ratones fueron alimentados con una dieta occidental y desarrollaron placas ateromatosas en las ramas braquiocefálicas así como en la aorta. En los análisis histopatológicos de la región subíntima, encontraron acúmulos de LDL, las mismas que forman estrías grasas, y esto ocasiona que se pierda las propiedades de barrera del glicocáliz (2, 3, 10). (Figura 3)

Figura 3. Vasos de ratones alimentados con dieta normal y dieta con alto contenido de grasa



A. Esquema de la aorta y sus ramas. B. Vasos de ratones con dieta normal, se observa los vasos limpios. C. Vasos en ratones con dieta con alto contenido de grasa, se observa placas ateromatosas. Tomado de Cancel 2016 (2).

Se ha determinado que, si las fuerzas de cizallamiento son bajas, se producen ordenamientos irregulares de las células endoteliales vasculares y se secretan sustancias vasoconstrictoras como la endotelina-1, enzima convertidora de angiotensina y citocinas proinflamatorias, además existe incremento de la permeabilidad endotelial, facilidad en el reclutamiento e infiltración inflamatoria celular. La tensión baja induce la lesión inicial y la tensión alta promueve la formación de la placa vulnerable (15-18).

b. S1P

Es un modulador potente de la barrera endotelial y del tono vascular, cuya función adicional es proteger del derramamiento e induce a la síntesis del glicocáliz. Esta S1P es un metabolito de los fosfolípidos de membrana, importante como señal molecular de células como las

endoteliales, musculares lisas y fibroblastos. Cumple un papel en la sobrevivencia de la célula, conversión de fenotipos celulares, angiogénesis, trombosis, cicatrización de heridas e inflamación. Ejerce una variedad de acciones a través de la unión con receptores relacionados a la proteína G (S1P1-5) de la superficie celular, activando señales o actuando como segundo mensajero. Promueve la formación de anillos de actina alrededor de las células endoteliales y fortalece las interacciones celulares y la matriz celular por la vía del S1P1, el cual además inhibe el desarrollo de aterosclerosis. En cambio, por la vía del S1P2, incrementa la permeabilidad vascular y la inflamación. La S1P ejerce entonces un rol protector de la aterosclerosis vía S1P1, y un rol proaterogénico a través de la S1P2 y S1P3 (3, 19-23).

c. Permeabilidad endotelial

La degradación del glicocáliz, permite que las células endoteliales dejen pasar más partículas de 10 nm, a comparación del glicocáliz intacto como lo demostró Cheng (24). Además, en flujos turbulentos, disminuye el espesor del HS en un 11% y del ácido siálico en un 21%. Aproximadamente la mitad del endotelio no estaría recubierto con estos compuestos (25).

Una vez que se da la apoptosis de las células musculares lisas, éstas inducen la expresión de la matriz de metaloproteasas (MMPs) y degradan la matriz extracelular. Las MMPs, son una familia de endopeptidasas, las cuales degradan el colágeno, gelatina y elastina

de la matriz extracelular, promoviendo el remodelamiento vascular. ¿Y en el glicocáliz? La acción de las MMPs en los componentes del glicocáliz ocurre a nivel de las proteínas de los proteoglicanos como los sindecanos, así intervienen en la disminución de la unión del sindecano con el HS. El derramamiento del sindecano (como el sindecano-1) por las MMPs, promueve la trombosis y la inflamación endotelial (6).

Cancel (2), determinó que, en las paredes vasculares de los ratones, solamente un 71% del glicocáliz cubría estas zonas, con un engrosamiento de 0.85 μm . En cambio, en el grupo control, con flujos uniformes, el glicocáliz cubría un 97% de la pared vascular con un grosor de 1.2 μm .

d. Comunicación intercelular en el endotelio

Estas uniones cumplen funciones vasculoprotectivas. El recubrimiento del glicocáliz expresa conexinas. En flujos uniformes, las uniones se realizan a través de conexinas Cx40, que se correlaciona con la no proliferación de células endoteliales. En flujos turbulentos, se lleva a cabo con conexinas tipo Cx43, con características proliferativas, como son en sitios ateroscleróticos (26, 27).

e. ON

El ON juega un rol antiateroesclerótico (inhibe la agregación plaquetaria, evita la proliferación de músculo liso, previene la adhesión leucocitaria y tiene capacidad dilatadora). La disfunción

del ON, favorece el desarrollo de la aterosclerosis, evidenciado en la reducción de la eNOS de las caveolas. Otro mecanismo de la disminución del ON, es por acción de la oxidasa de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH).

Las especies reactivas de oxígeno/nitrógeno (ROS/RNS) en el remodelamiento vascular también cumplen un papel importante en la inflamación y el daño endotelial. Dentro de las ROS se encuentran las peroxidasas y radicales (como el superóxido). Los aniones superóxidos (O_2^-), pueden reaccionar con el ON, formando aniones de peroxinitritos (que son fuentes de RNS y disminuyen la disponibilidad de ON). Tanto la ROS como la RNS son capaces de destruir directamente los GAG.

En la aterosclerosis, los O_2^- , son generados por la NADPH, expresado por células inmunes y células musculares lisas del endotelio vascular. La severidad de la enfermedad se correlaciona con la expresión de subunidades de NADPH oxidasa. La xantina oxidasa (XO) y la mieloperoxidasa (MPO) presenta otra fuente enzimática de ROS. La XO genera O_2^- , peróxido de hidrógeno y su actividad se puede incrementar por un proateroesclerótico como la angiotensina II. La XO es expresada en las células endoteliales, y puede ser encontrada en las cadenas de HS del glicocáliz, lo que genera ROS cerca de la capa de superficie vulnerable. En conjunto con el radical ON producido por la sintasa inducible de ON, los O_2^- constituyen los radicales

precursores para la generación de radicales aniones de bicarbonato, radicales hidroxilos y ácido hipocloroso (HOCl), los cuales inducen a la fragmentación del glicocáliz.

La MPO es producida por la lesión de los macrófagos y contribuye al estrés oxidativo en la aterosclerosis generando HOCl. Un importante mecanismo de aterosclerosis, constituyen los macrófagos en las placas ateroscleróticas que producen no solamente MMPs, sino que también generan MPO.

Si existe una lesión local del vaso, la continua exposición del endotelio a una tensión alta, puede inducir a un incremento anormal de ON, lo cual ocasiona una degradación de la matriz extracelular y glicocáliz a través de las MMPs. El remodelamiento del glicocáliz, está asociado con cambios en las funciones de las células endoteliales (proliferación, migración, adhesión), activación de la eNOS y producción de ON. La degradación del HS inhibe la motilidad y la respuesta proliferativa de las células endoteliales a las fuerzas de cizallamiento e incrementa la adhesión de los leucocitos al endotelio (6, 28-32).

UTILIDAD CLÍNICA ACTUAL

¿Cómo medimos el glicocáliz? En este aspecto, se han utilizado varias técnicas para visualizar y medir el glicocáliz, entre las cuales están: la microscopía electrónica de transmisión (TEM), microscopía intravital (IM), velocimetría de imagen de micropartículas (μ -PIV), imagen espectral de polarización ortogonal (OPS), imágenes de campo

oscuro de flujo lateral (SDF), microscopía de escaneo láser confocal (CLSM) y microscopía de escaneo láser de dos fotones (TPLSM). Tanto la TEM como la CLSM necesitan fijación de muestra para mantener su estructura original, lo que puede comprimir o distorsionar la configuración del glicocáliz. La IM, μ -PIV, OPS y SDF predicen el grosor del glicocáliz endotelial indirectamente y se limitan a la microcirculación. Por el contrario, TPLSM con su profundidad de penetración mejorada, buena resolución y baja fototoxicidad, puede ser una herramienta prometedora para visualizar directamente el glicocáliz en las arterias más grandes, tanto in vivo como ex vivo (33). Como en la aterosclerosis existen altos grados de inflamación vascular que degradan la capa endotelial, esto destruye el glicocáliz, que implica la liberación de sus componentes como HA, HS sindecano-1 al torrente sanguíneo, donde pueden ser analizados como una medición directa del daño endotelial. Estos se han correlacionado con la severidad de la enfermedad y la mortalidad como señala Sieve (6). En este sentido, se podrían solicitar estos marcadores, para determinar la gravedad de esta condición.

En el estudio realizado por Miranda (34), se evaluó el daño endotelial en pacientes con SCA. Se encontró que niveles altos de sindecano-1, fueron observados en estos pacientes, sugiriendo que el daño endotelial podría participar en el proceso de la vulnerabilidad de la placa aterosclerótica.

Si se compara las células endoteliales en los pacientes con poco riesgo de enfermedad cardiovascular, estos presentan menor cantidad de NADPH oxidasa 4 (NOX4), el mismo que se encuentra elevado en flujos turbulentos. Niveles elevados de NOX4 disminuyen la disponibilidad de ON, que se puede utilizar para determinar la disfunción endotelial (35, 36).

Así como medimos la glucosa o lactato, es probable que a futuro exista algún método para medir el daño del glicocáliz, y de esta manera tener una herramienta más, para el manejo integral del enfermo crítico.

¿Cuáles son los objetivos del manejo del enfermo crítico? El diagnóstico y tratamiento oportuno. En consecuencia, sería interesante determinar cómo está el endotelio, sin embargo, habrá que tomar en cuenta otros factores como son la sepsis, shock, diabetes, falla multiorgánica por nombrar algunos. En otras palabras, si el paciente ya tenía establecido la aterosclerosis, si le sumamos uno o varios de los factores antes mencionados, se exacerbaría el daño endotelial, y si no hay reversibilidad de la misma, ocasionaría la muerte del paciente.

ENFOQUE TRASLACIONAL (31, 37-44)

- Para disminuir la hiperlipidemia y las complicaciones trombóticas se encuentran las estatinas, porque reducen los niveles lipídicos, tienen respuesta antiinflamatoria, reducen la degradación de la matriz por las enzimas, estabilizan la placa aterosclerótica y reducen el riesgo de ruptura. Dentro de estos

fármacos, la rosuvastatina recupera parcialmente el glicocáliz.

- La aspirina tiene propiedades antiateroescleróticas, antiinflamatorias y reduce la formación del trombo. Ha sido efectiva como prevención secundaria, que combinado con las estatinas reduce la mortalidad.
- Con la estabilización del glicocáliz, se busca bloquear los depósitos de lipoproteínas y la recaptación por parte de los macrófagos, deteniendo la progresión de la placa, estimulando la comunicación intercelular y las vías del ON.
- Dentro de los fármacos que están en investigación, los objetivos a nivel del glicocáliz son: estabilización de su estructura, reemplazo con componentes de su estructura, bloqueo de la degradación enzimática y mejoramiento de su síntesis.
- La albúmina, es conocida por estabilizar el glicocáliz, y la hipoalbuminemia se ha relacionado con el colapso del glicocáliz. La albúmina se une a la S1P, la misma que modula la estructura del glicocáliz uniéndose a dicho receptor, el cual tiene el efecto de inactivar la degradación de la matriz.
- Con HS exógeno, las células endoteliales se vuelven impermeables a pequeñas partículas, contrarrestando el efecto de la degradación enzimática. El sulodexide (contiene HS y DS), restablece la función de barrera endotelial, inhibe la degradación enzimática, restringe la actividad inflamatoria, y desacelera la

muerte celular programada endotelial.

- El CS, inhibe la expresión de citocinas proinflamatorias, disminuye el número de monocitos que migran a las células inflamatorias y reduce la presencia de macrófagos en placas arteriales.
- El rhamnan sulfato, similar al HS, a nivel de las células endoteliales previene y trata las condiciones asociadas con la permeabilidad transendotelial, incluyendo la inflamación y aterosclerosis.

CONCLUSIONES

- La sangre y sus componentes, están íntimamente relacionados con el glicocáliz.
- Cualquier modificación del glicocáliz, altera al endotelio vascular y su funcionamiento.
- Mantener el glicocáliz en buen estado, ayudaría a preservar al endotelio para que éste funcione de manera óptima.
- Para la formación de la aterosclerosis, existen una serie de determinantes para su desarrollo, uno de ellos: la lesión endotelial inicial, o, mejor dicho, la lesión inicial del glicocáliz.
- Los fármacos que se están investigando, tienen como objetivo el glicocáliz.
- A manera de pregunta: en el paciente crítico, en los próximos años ¿solicitaremos marcadores del daño del glicocáliz?

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Instituto Nacional de Estadística y Censos. Estadísticas vitales. Registro Estadístico de Nacidos vivos y Defunciones. [Internet]. Ecuador: INEC; 2016. [Consultado 11 de mayo de 2018]. Recuperado de: http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Poblacion_y_Demografia/Nacimientos_Defunciones/2016/Presentacion_Nacimientos_y_Defunciones_2016.pdf
- [2] Cancel LM, Ebong EE, Mensah S, Hirschberg C, Tarbell JM. Endothelial glycocalyx, apoptosis and inflammation in an atherosclerotic mouse model. *Atherosclerosis*. 2016;252:136–46. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.07.930
- [3] Zeng Y. Endothelial Glycocalyx: Novel Insight into Atherosclerosis. *J Biomed* 2017; 2:109-116. doi: 10.7150/jbm.17725
- [4] Ebong EE, Macaluso FP, Spray DC, Tarbell JM. Imaging the endothelial glycocalyx in vitro by rapid freezing/freeze substitution transmission electron microscopy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(8):1908–15. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.225268
- [5] Haeren RH, van de Ven SE, van Zandvoort MA, Vink H, van Overbeeke JJ, Hoogland G, et al. Assessment and Imaging of the Cerebrovascular Glycocalyx. *Curr Neurovasc Res*. 2016; 13: 249-60. doi: 10.2174/1567202613666160504104434
- [6] Sieve I, Münster-Kühnel AK, Hilfiker-Kleiner D. Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases. *Vascul*

Pharmacol. 2018;100:26-33. doi: 10.1016/j.vph.2017.09.002

[7] Sun B, Boyanovsky BB, Connelly MA, Shridas P, van der Westhuyzen DR, Webb NR. Distinct mechanisms for OxLDL uptake and cellular trafficking by class B scavenger receptors CD36 and SR-BI. *J Lipid Res.* 2007;48(12):2560–70. doi: 10.1194/jlr.M700163-JLR200

[8] Chen C, Khismatullin DB. Oxidized low-density lipoprotein contributes to atherogenesis via co-activation of macrophages and mast cells. *PLoS One.* 2015;10(3):e0123088. doi: 10.1371/journal.pone.0123088

[9] Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature.* 2000;407(6801):233–41. doi: 10.1038/35025203

[10] Yurdagul A, Jr., Finney AC, Woolard MD, Orr AW. The arterial microenvironment: the where and why of atherosclerosis. *Biochem J.* 2016; 473: 1281-95. doi: 10.1042/BJ20150844

[11] Hall J, Guyton A. Visión general de la circulación; biofísica de la presión, el flujo y la resistencia. En: Hall J, editor. *Tratado de fisiología médica.* Elsevier; 2016. pp 442-443.

[12] Durand MJ, Gutterman DD. Diversity in mechanisms of endothelium-dependent vasodilation in health and disease. *Microcirculation.* 2013;20(3):239–47. doi: 10.1111/micc.12040.

[13] Fels J, Jeggle P, Liashkovich I, Peters W, Oberleithner H. Nanomechanics of vascular endothelium. *Cell Tissue Res.*

2014;355(3):727–37. doi: 10.1007/s00441-014-1853-5

[14] Herrmann J, Lerman A. The endothelium: dysfunction and beyond. *J Nucl Cardiol.* 2001;8(2):197–206. doi: 10.1067/mnc.2001.114148

[15] Simmons RD, Kumar S, Jo H. The role of endothelial mechanosensitive genes in atherosclerosis and omics approaches. *Archives of biochemistry and biophysics.* 2016; 591: 111-31. doi: 10.1016/j.abb.2015.11.005

[16] Davies PF. Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2009; 6: 16-26. doi: 10.1038/ncpcardio1397

[17] Brown AJ, Teng Z, Evans PC, Gillard JH, Samady H, Bennett MR. Role of biomechanical forces in the natural history of coronary atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol.* 2016; 13: 210-20. doi: 10.1038/nrcardio.2015.203

[18] Wang Y, Qiu J, Luo S, Xie X, Zheng Y, Zhang K, et al. High shear stress induces atherosclerotic vulnerable plaque formation through angiogenesis. *Regen Biomater.* 2016; 3: 257-67. doi: 10.1093/rb/rbw021

[19] Zeng Y, Tarbell JM. The adaptive remodeling of endothelial glycocalyx in response to fluid shear stress. *PLoS One.* 2014; 9: e86249. doi: 10.1371/journal.pone.0086249

[20] Pappu R, Schwab SR, Cornelissen I, Pereira JP, Regard JB, Xu Y, et al. Promotion of lymphocyte egress into blood and lymph by

distinct sources of sphingosine-1-phosphate. *Science* (New York, NY). 2007; 316:295-8. doi: 10.1126/science.1139221

[21] Meyer zu Heringdorf D, Jakobs KH. Lysophospholipid receptors: signalling, pharmacology and regulation by lysophospholipid metabolism. *Biochimica et biophysica acta*. 2007; 1768: 923-40. doi: 10.1016/j.bbamem.2006.09.026

[22] Curry FR, Adamson RH. Tonic regulation of vascular permeability. *Acta physiologica* (Oxford, England). 2013; 207: 628-49. doi: 10.1111/apha.12076

[23] Sanchez T, Skoura A, Wu MT, Casserly B, Harrington EO, Hla T. Induction of vascular permeability by the sphingosine-1-phosphate receptor-2 (S1P2R) and its downstream effectors ROCK and PTEN. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2007; 27. doi: 10.1161/ATVBAHA.107.143735

[24] Cheng MJ, Kumar R, Sridhar S, Webster TJ, Ebong EE. Endothelial glycocalyx conditions influence nanoparticle uptake for passive targeting. *Int J Nanomedicine*. 2016;11:3305–15. doi: 10.2147/IJN.S106299

[25] Mitra R, O'Neil GL, Harding IC, Cheng MJ, Mensah SA, Ebong EE. Glycocalyx in atherosclerosis-relevant endothelium function and as a therapeutic target. *Curr Atheroscler Rep* (2017) 19(12):63. doi: 10.1007/s11883-017-0691-9

[26] Matsuuchi L, Naus CC. Gap junction proteins on the

move: connexins, the cytoskeleton and migration. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2013;1828(1):94–108. doi: 10.1016/j.bbamem.2012.05.014

[27] Ebong EE, Depaola N. Specificity in the participation of connexin proteins in flow-induced endothelial gap junction communication. *Pflugers Arch*. 2013;465(9):1293–302. doi: 10.1007/s00424-013-1245-9

[28] Laroia ST, Ganti AK, Laroia AT, Tendulkar KK. Endothelium and the lipid metabolism: the current understanding. *Int J Cardiol*. 2003;88(1):1–9. doi: 10.1016/S0167-5273(02)00366-2

[29] Shaul PW. Endothelial nitric oxide synthase, caveolae and the development of atherosclerosis. *J Physiol*. 2003;547(Pt 1):21–33. doi: 10.1113/jphysiol.2002.031534

[30] Montezano AC, Touyz RM. Reactive oxygen species and endothelial function—role of nitric oxide synthase uncoupling and Nox family nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2012;110(1):87–94. doi: 10.1111/j.1742-7843.2011.00785.x

[31] Tarbell JM, Cancel LM. The glycocalyx and its significance in human medicine. *J Intern Med*. 2016; 280: 97-113. doi: 10.1111/joim.12465

[32] Lipowsky HH. Protease Activity and the Role of the Endothelial Glycocalyx in Inflammation. *Drug Discov Today Dis Models*. 2011;

8:57-62. doi: 10.1016/j.ddmod.2011.05.004

[33] Kang, H., Deng, X. The Endothelial Glycocalyx: Visualization and Measurement. *J Biomed* 2017; 2:120-123. doi: 10.7150/jbm.20986

[34] Miranda CH, de Carvalho Borges M, Schmidt A, Marin-Neto JA, Pazin-Filho A. Evaluation of the endothelial glycocalyx damage in patients with acute coronary syndrome. *Atherosclerosis*. 2016 Apr;247:184-8. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.02.023

[35] Fearheller DL, Park J-Y, Rizzo V, Kim B, Brown MD. Racial differences in the responses to shear stress in human umbilical vein endothelial cells. *Vasc Health Risk Manag*. 2011;7:425-31. doi: 10.2147/VHRM.S22435

[36] Mudau M, Genis A, Lochner A, Strijdom H. Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis. *Cardiovasc J Afr*. 2012;23(4):222-31. doi: 10.5830/CVJA-2011-068

[37] Riccioni G, Sblendorio V. Atherosclerosis: from biology to pharmacological treatment. *J Geriatr Cardiol*. 2012;9(3):305-17. doi: 10.3724/SP.J.1263.2012.02132

[38] Crisby M, Nordin-Fredriksson G, Shah PK, Yano J, Zhu J, Nilsson J. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization. *Circulation*. 2001;103(7):926-33. doi: 10.1161/01.CIR.103.7.926

[39] Meuwese MC, Mooij HL, Nieuwdorp M, van Lith B, Marck

R, Vink H, et al. Partial recovery of the endothelial glycocalyx upon rosuvastatin therapy in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res*. 2009;50(1):148-53. doi: 10.1194/jlr.P800025-JLR200

[40] Weber C, Noels H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med*. 2011;17(11):1410-22. doi: 10.1038/nm.2538

[41] Zeng Y, Waters M, Andrews A, Honarmandi P, Ebong EE, Rizzo V, et al. Fluid shear stress induces the clustering of heparan sulfate via mobility of glypican-1 in lipid rafts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013; 305:H811-20. doi: 10.1152/ajpheart.00764.2012

[42] Masola V, Zaza G, Onisto M, Lupo A, Gambaro G. Glycosaminoglycans, proteoglycans and sulodexide and the endothelium: biological roles and pharmacological effects. *Int Angiol*. [Internet]. 2014 [citado 11 de mayo de 2018];33(3):243-54. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24936533>

[43] Mensah SA, Cheng MJ, Homayoni H, Plouffe BD, Coury AJ, Ebong EE. Regeneration of glycocalyx by heparin sulfate and sphingosine 1-phosphate restores inter-endothelial communication.

[44] *PLoS One*. 2017 Oct 12;12(10):e0186116. doi: 10.1371/journal.pone.0186116

[45] Melgar-Lesmes P, Garcia-Polite F, Del-Rey-Puech P, Rosas E, Dreyfuss JL, Montell E, et al. Treatment with chondroitin sulfate to

modulate inflammation and atherogenesis in obesity. *Atherosclerosis*.

2016;245:82–7. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.12.016

ROL DEL GLICOCÁLIX EN LA SEPSIS

Gustavo Velarde Montero. MD

Capítulo 5

ROL DEL GLICOCÁLIX EN LA SEPSIS

ROLE OF GLYCOCALYX IN THE SEPSIS

Gustavo Velarde Montero. MD

Todos podemos cambiar la estrella con la que nacimos.

-Lic. Carlos Velarde

RESUMEN

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

Palabras clave: Glicocáliz, sepsis, endotelio. (DeCS-BIREME)

ABSTRACT

The vascular endothelium is covered by glycocalyx in its apical region; a complex structure of macromolecules formed by proteoglycans and glycosaminoglycans. Alterations in the physiology of this structure in sepsis could explain endothelial patency, vasoplegia, the procoagulant

state and persistent inflammation; that are clinically associated with organ dysfunction and consequently high mortality. Thus, products of glycocalyx degradation could be used as biomarkers for diagnosis and prognosis. In addition to becoming pharmacological targets or early resuscitation guides, so the knowledge of the molecular mechanisms involved are of vital importance in clinical practice.

Keywords: Glycocalyx, sepsis, endothelium. (MESH-NIH)

INTRODUCCIÓN

“La disfunción orgánica que amenaza la vida causada por una respuesta desregulada del huésped a la infección”, Sepsis representa un trastorno grave con una mortalidad devastadora de aproximadamente 40% en choque séptico [1]. En el último milenio su definición ha cambiado varias veces por la dificultad compleja de la comprensión más próxima y real de su fisiopatología. La definición actual se centra en la disfunción orgánica [1]. Originada en la respuesta desregulada del huésped a la infección que se inicia por el reconocimiento del patógeno mediante los (PAMPs), o también por ligandos endógenos (DAMPs) [2]. Que a nivel endotelial causan degradación del glicocáliz y liberación de sus constituyentes; generando (DAMPs) altamente potentes con consecuencias devastadoras en cascadas pro inflamatorias, que afectan prácticamente a todos los vasos sanguíneos, con una injuria sistémica en la microcirculación generando pérdida del control adecuado en el tono vascular, en la hemostasia, y como barrera capilar evento clave

en la progresión de la disfunción multiorgánica y la mortalidad en la sepsis.

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

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

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

Glicocáliz

Es una capa gelatinosa de 0,2 a 0,5 μm de grosor que recubre el ESL, constituida por proteoglicanos que difieren por el tamaño de su núcleo proteico (sindecano, perlecan, glipicano); estas son moléculas con tres dominios: extraendotelial, transmembrana e intracitosol con capacidad de ser fosforilado, es decir iniciar procesos de señalización intraendotelial. Además, cargados negativamente por glicosaminoglicanos (ácido hialurónico, dermatán sulfato y heparán sulfato en un 50 a 90%) que cubren la mayoría de células

endoteliales en el cuerpo humano [4], esta estructura compleja evita el contacto innecesario de células plasmáticas (plaquetas, leucocitos), macro y micro moléculas entre el plasma y el endotelio; sin embargo, conserva la posibilidad de enlazar proteínas plasmáticas (albumina) y glicosaminoglicanos solubles que mantienen su armonía fisiológica.

Crítico en la regulación y correcto funcionamiento de:

- Hemostasia
- Sensor vasomotor
- Inmunología – Inflamación
- Barrera

Fisiopatología aplicada a la sepsis

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

Daño del glicocalix sinónimo de inflamación persistente

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

A continuación, describimos los mecanismos

1. Sobreexpresión de moléculas adherencia
2. Teoría de la Heparanasa

Sobreexpresión de moléculas adherencia

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

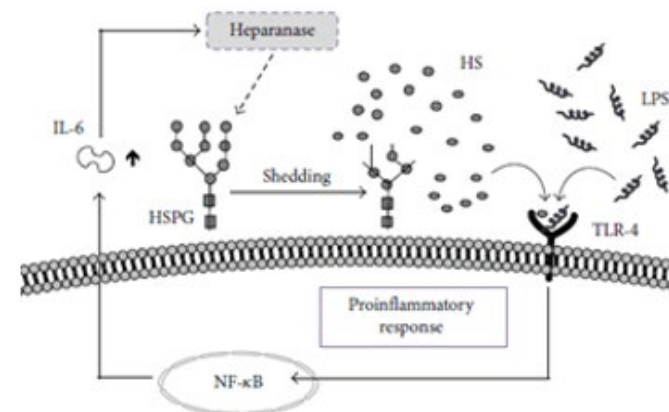
Como resultado final mayor degradación del glicocalix, que genera

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

Teoría de la Heparanasa

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

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



Daño del glicocáliz sinónimo de vasoplejía

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

Daño del glicocáliz sinónimo de edema intersticial

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

1. Barrera endotelial
2. Modelo de permeabilidad paracelular.

Barrera endotelial

En condiciones de reposo, la función de barrera endotelial microvascular se mantiene mediante (TJ) uniones fuertes endoteliales que se estabilizan mediante (AJs) uniones adherentes en el espacio intercelular y mediante la capa superficial de glicocalix que cubre

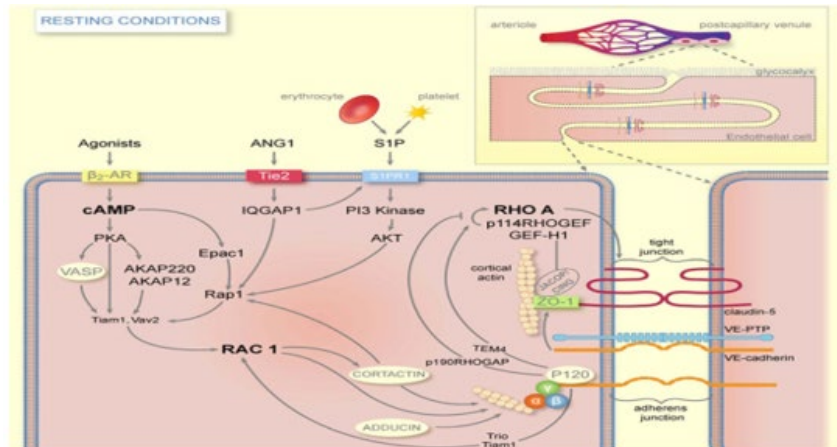
la hendidura. La integridad de (AJs) está controlada por el estado de fosforilación de las caderinas endoteliales vasculares para el que se requiere un conjunto específico de fosfatasas, como VE-PTP, por ejemplo. Tanto los TJ como los AJ se anclan al citoesqueleto endotelial conformado por actina cortical a través de varias proteínas adaptadoras como GEF y GAP; previamente moduladas por GTPasas como Rac1 y RhoA en su estado inactivo. Todo este proceso contribuye a una barrera intacta. Sin embargo, Rac1 es la molécula de señalización central que estabiliza las uniones, al menos en parte, mediante la regulación de las ABP y es el objetivo de señalización extracelular que incluyen S1P y Ang-1; vías relacionadas directamente con la estabilidad de la membrana.

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

Figura 2.

Figura 2. Barrera endotelial en reposo.

Tomado de [Radeva MY, Waschke J]



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

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

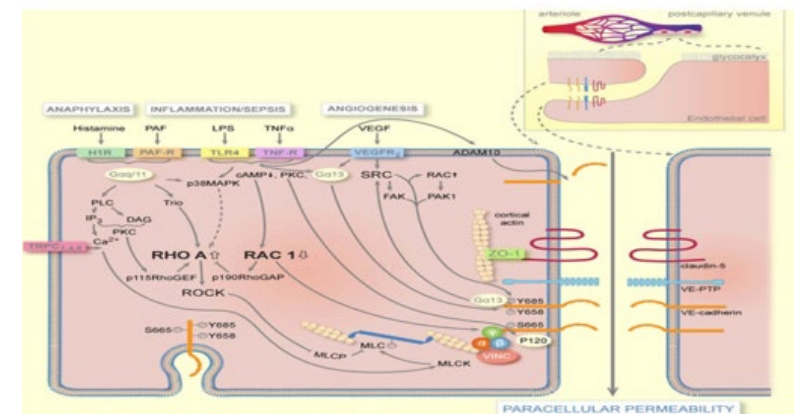
Ambos conducen a la endocitosis de las caderinas y las pérdidas de las uniones intercelulares generando un espacio intercelular que refleja fuga de líquido y solutos.

La fosforilación de las caderinas endovasculares se realizan mediante la vía SRC por unión del VEGF a su receptor VEGF-R2 junto con

otras quinasas. Sin embargo, el paso crítico es la inactivación de Rac1 y la sobre activación de Rho A que puede potenciar las fuerzas contráctiles, ejerciendo tensión e induciendo la reorganización de AJ en un proceso para el cual es importante el reclutamiento de vinculina. Algunos mediadores inflamatorios de sepsis (TNF- α LPS, PAF), actúan principalmente sobre Rac1 generando su inactivación y reducción de los niveles de AMPc con la subsiguiente apertura de las uniones fuertes y adherentes generando un espacio intercelular como resultado final fuga de líquidos y solutos [14]. Figura 3.

Figura 3. Barrera Endotelial en la Sepsis.

Tomado de [Radeva MY, Waschke



Modelo de permeabilidad paracelular

El endotelio en el vaso sanguíneo y linfático es una fila única de células y la unión entre estas dos células se denomina Hendidura Paracelular, por la cual se da el flujo de solutos y fluidos. Esta hendidura en su

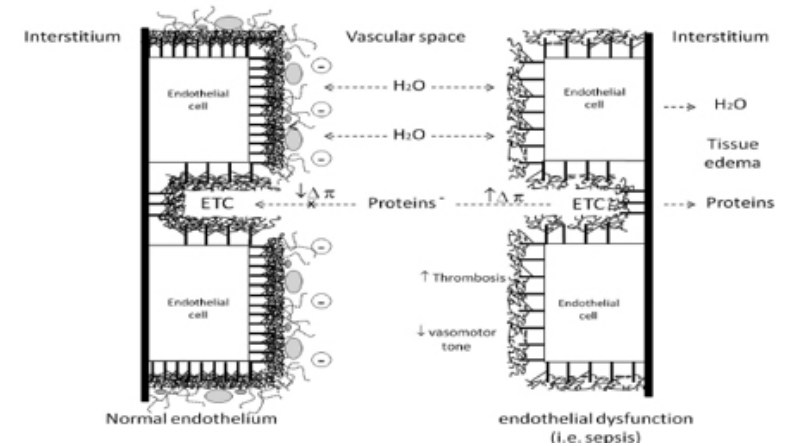
región apical está cubierta por glicocalix en condiciones fisiológicas retiene albumina debido a su alta densidad de cargas negativas por sus cadenas cortas de glicosaminoglicanos evitando la fuga de albumina y manteniendo el gradiente oncótico intravascular, con paso de líquidos en pequeñas cantidades que retornan a la circulación por el sistema linfático, esto es llamado el modelo de permeabilidad paracelular.

Recientemente se ha propuesto que la presión oncótica generada por el glicocalix en las hendiduras celulares o poros capilares juega un rol determinante en el flujo transcapilar [15]. En patologías como sepsis la inflamación desregulada genera injuria del glicocalix, denudamiento de heparán sulfato, con la subsecuente fuga de albumina al intersticio y disminución de la presión oncótica intravascular, pérdida del modelo de permeabilidad paracelular, y clínicamente esto se asocia con, hipovolemia, edema y disfunción orgánica, mecanismo que vendría a ser más importante para ciertos autores en relación al mecanismo propuesto por Starling. Figura 4.

El uso de coloides en la reanimación hídrica se ha asociado con mayor mortalidad y terapia de sustitución renal [16], esto quizás podría explicarse por la acumulación de proteínas en el espacio intersticial debido al daño del glicocalix, es decir pérdida del modelo paracelular generando edema extravascular; además se podría asociar porque la administración de coloides no resuelve el edema intersticial en el paciente séptico [15], [17].

Figura 4. Hendidura paracelular en reposo y en inflamación.

Tomado de [LukasMartin, Patrick Koczera]



Daño del glicocalix y la hemostasia

Ya mencionamos la importancia del glicocalix en evitar el contacto y activación excesiva de células plasmáticas (neutrófilos y plaquetas) en estados inflamatorios. En esta sección se hará hincapié en otros mecanismos donde la degradación del glicocalix contribuye a un estado procoagulante en la sepsis.

El inicio de la coagulación in vivo requiere la exposición de la proteína transmembrana denominada factor tisular. Su dominio extracelular se une y mejora la actividad proteolítica del factor VII, que a su vez activa factor X y factor IX por escisión enzimática; originando factor X activado (Xa) subsecuentemente activa protrombina a trombina, esta proteasa convierte el fibrinógeno en fibrina generando una malla que estabiliza el coagulo [18].

Una vez que la coagulación comenzó a producir trombina, se vuelve altamente amplificada.

Por lo tanto, es importante que la superficie endotelial proporcione varias proteínas y receptores que inhiban la trombina y regulen el progreso de la coagulación:

(TFPI) proteína inhibitoria del factor tisular

Se expresa particularmente en la superficie del endotelio indemne; poseen dominios que permiten el enlace con el factor Xa y VIIa inhibiendo rápidamente sus funciones pro trombóticas.

Antitrombina

Es un potente inhibidor de la trombina que se encuentra unido a los heparán sulfatos específicos de proteoglicanos en el glicocalix, de ahí la importancia de la integridad del mismo.

Trombomodulina

Es una proteína transmembrana que se sintetiza predominantemente en las células endoteliales con funciones anticoagulantes y antiinflamatorias; convierte la proteína C en proteína C activada este proceso facilitado por EPCR. La proteína C activada inhibe cofactores de coagulación como el V y el VIIIa con la participación de la proteína S. (anticoagulante)

Además, la trombomodulina inhibe el factor 5a del complemento.
(antiinflamatorio)

En estudios in vitro, se ha demostrado que la activación de PAR-1

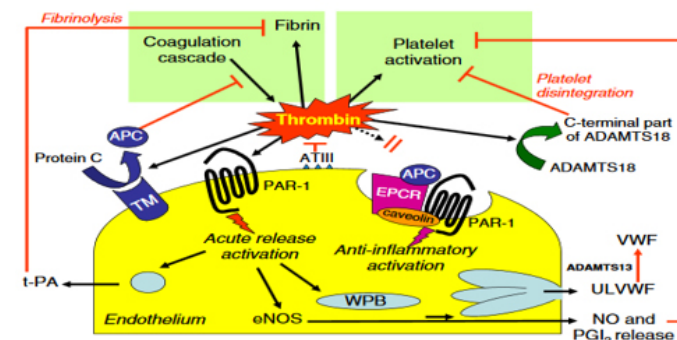
endotelial mediante la interacción del complejo EPCR-APC causó la activación de la proteína Gi y la fosforilación de MAPK con subsiguiente activación de esfingosina-1-fosfato (S-1-P) que al unirse a su receptor activa la vía ARAC 1 generando altas concentraciones de AMPc como producto final una estabilización endotelial [18]. Proceso que lo describimos a mayor profundidad en la sección de barrera endotelial. Figura 5.

La vía PAR -1 también se puede activar por la trombina en un intento de un equilibrio en el estado de hemostasia y lo hace mediante los siguientes mecanismos:

1. Producción de óxido nítrico (NO) y prostaciclina, que causan vasodilatación y limitan la activación plaquetaria;
2. Liberación de t-PA que se une a la fibrina generada y causa fibrinólisis efectiva.

Figura 5. Endotelio control de la coagulación.

Tomado de [S. R. Ostrowski, R. M. G. Berg]



El VWF es la proteína más abundante de los cuerpos de Weibel-Palade

que son sintetizados en el retículo endoplásmico y procesados en el complejo de Golgi; se encuentran en el endotelio, megacariocitos y en gránulos de las plaquetas; P selectina y las Angiopoietina 2 también son almacenadas en los cuerpos de Weibel-Palade en menor cantidad. Las plaquetas normalmente son repelidas desde la superficie del endotelio por los glicosaminoglicanos cargados negativamente, sin embargo, en estados inflamatorios esta defensa puede ser superada en plaquetas activadas por interacciones receptor-ligando como: P-selectina o VWF en la superficie del endotelio, e indirectamente a través de GpIIb / IIIa e ICAM-1. La Heparanasa que se libera a partir de plaquetas activadas, puede facilitar esta interacción degradando el heparán sulfato del glicocáliz endotelial [19].

Las células endoteliales previenen la formación del trombo mediante la supresión de la adhesión y activación plaquetaria sintetizando prostaciclina y prostaglandina E2, que se liberan del endotelio después de la estimulación por agentes vasoactivos y trombina. La prostaciclina es producida por el endotelio de grandes vasos, mientras que en los pequeños vasos producen predominantemente prostaglandina E2; los efectos de la prostaciclina se ven reforzada por el óxido nítrico, que es producido por el óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS), dando como resultado final vasodilatación e inhibición de la agregación plaquetaria.

Las células endoteliales también proporcionan un mecanismo que

contrarresta la acumulación de fibrina, mediante la liberación del activador del plasminógeno tisular t-PA, que es el regulador principal para activar el sistema fibrinolítico en sangre y cavidades corporales. Tanto t-PA monocatenario como bicatenario activan el plasminógeno derivado del hígado; normalmente las células la producen y liberan continuamente t-PA. Una vez formado la plasmina es una proteasa de acción amplia que degrada la fibrina [19].

Utilidad de los marcadores de degradación del glicocáliz

En esta sección se hará una revisión de la utilidad predictiva y diagnóstica, en torno a la evidencia científica disponible al momento de los componentes de degradación del glicocalix en la sepsis; se mencionarán solo estudios prospectivos.

Sindecano - 1

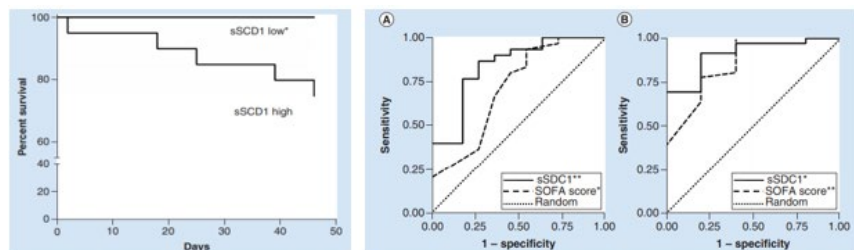
Es una glicoproteína anclada a la membrana endotelial constituyente del glicocáliz, sus niveles de concentración plasmática por la degradación del glicocáliz en sepsis se han relacionado como una posible herramienta pronóstica y diagnóstica.

En uno de los principales estudios con mayor número de pacientes hasta el momento, realizado por J. Steppan, S.Hofer (2011) [5]; Con 104 pacientes con sepsis severa y choque séptico de foco abdominal, 28 pacientes quirúrgicos y 18 voluntarios jóvenes sanos, demuestran niveles de sindecano - 1 elevados en el grupo séptico y quirúrgico, en relación al grupo control; además los pacientes sépticos muestran

niveles más altos de sindecano-1 paralelo con elevación de interleucina 6, VCAM-1 e ICAM-1 demostrando relación directa con estado inflamatorio. Esto se ha corroborado en otros estudios de población más pequeños [20], [21].

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

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



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

Con la evidencia disponible al momento nos indica que sindecano -1 medido el primer día con los cortes ya mencionados en el paciente séptico de varias etiologías muestra una correlación muy buena como predictor de mortalidad y severidad. Más interesante aún se asocia como un buen predictor de progresión a sepsis, sin embargo, cabe mencionar que se requiere estudios con mayor cantidad de pacientes, para confirmar estos resultados que podrían facilitar el diagnostico e intervenciones más tempranas en pacientes de riesgo.

Heparán sulfato

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

Además, en otro estudio más reciente por A. Nelson et al. [24] (2014) con 24 pacientes con sepsis y choque séptico y 24 pacientes control

(neuroquirúrgicos), midieron glicosaminoglicanos evidenciando niveles altos de heparán sulfato en el grupo de choque séptico, demostrando que se asocian como predictor de mortalidad a los 90 días, y se correlacionan de forma paralela con actividad inflamatoria (IL -6 IL -1).

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

Endocano

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

1. Sepsis y choque séptico
2. Síndrome de distrés respiratorio agudo

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

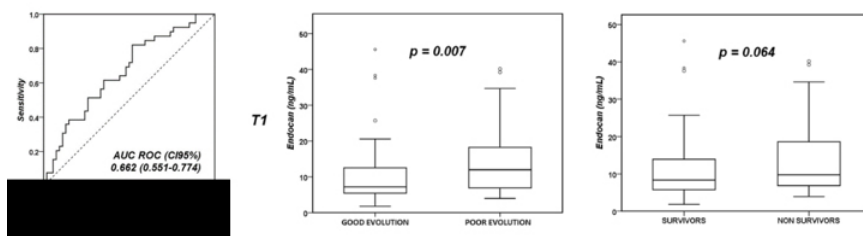
En consecuencia, los autores dan como niveles de corte los siguientes

sepsis > 1.8 ng / mL, sepsis grave > 2.6 ng / mL, y shock séptico >2.9 ng / mL). Y como herramienta pronóstica los niveles de endocano medidos el primer día predicen de mortalidad tanto a los 30 días (AUC 0.63) y a los 6 meses (AUC = 0.65).

Sin embargo, otros estudios evidencian mayor utilidad diagnóstica y pronóstica del endocano. (Sheng-Yuan Hsiao^{a,b}, Chia-Te Kung - 2018) [26] en 153 pacientes con sepsis severa determinan una curva ROC de 0.75 como predictor de mortalidad a partir del corte de 6.28 ng/ml y por cada un punto de ascenso determina 11.1% de incremento en la tasa de mortalidad. Así como Zhao R. Dong S [27] en (104 pacientes con sepsis) con un corte de 4.37 ug/L de endocano establece una curva ROC de 0.88 versus 0.84 con procalcitonina para el diagnóstico de sepsis, y una curva ROC de 0.91 de endocano como predictor de mortalidad a los 28 días versus 0.76 con procalcitonina. El Síndrome de distrés respiratorio agudo aún mantiene una alta mortalidad 35 a 40% [28], para categorizar la severidad de este síndrome se usa la PaFIO2, que además gatilla la optimización de su manejo con varias estrategias ya establecidas, sin embargo, el poder pronóstico de esta variable permanece aún baja con un AUROC de 0.58 (0.56-.59) [29]. Por lo que nuevos biomarcadores son necesarios que permitan una mejor categorización en un síndrome tan heterogéneo. En este contexto, estudios sugieren una asociación entre niveles altos de endocano y falla respiratoria aguda [30], sin embargo en un trabajo

reciente realizado por Diego Orbeago, Lokmane Rahmania [31] (2017), en 96 pacientes encontraron que el endocano en SDRA tiene una baja sensibilidad y moderada especificidad medidos a las 24 horas con un corte de 6 ng/mL y de 14 ng/ml, para predicción de pobre evolución con una curva ROC de 0.66 (0.55-0.74), y no evidenciaron correlación con mortalidad.

Figura 7. Endocan curva ROC para predicción de mala evolución; C, Diagrama de cajas, Endocan en sobrevivientes y no sobrevivientes. Tomado de [Orbeago D, Rahmania L]



Todos estos biomarcadores son prometedores, aún es necesario definir en un contexto clínico adecuado, el nivel de corte, y utilidad ya sea como medida pronostica, diagnostica u objetivo de reanimación. La disponibilidad científica en humanos aun es pequeña, el optimismo que ha generado en el campo experimental en animales aún debe ser plasmado en beneficios concretos para el ser humano.

Enfoque traslacional

Al inducir sepsis en ratones mediante LPS han evidenciado de forma temprana a nivel endotelial: activación de neutrófilos, adhesión,

migración y aumento de la permeabilidad vascular tanto a nivel glomerular como peri tubular con una disfunción en los mecanismos de regulación local del tono capilar ocasionando una heterogeneidad en la perfusión renal, todo esto en una vía común para la progresión rápida hacia una lesión renal aguda.

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

La pérdida de las defensas antioxidantes en el glicocáliz hace que la terapia antioxidante sea un candidato lógico para proteger la ECL. De hecho, la adición de catalasa y SOD puede bloquear la degradación del glicocáliz. Aun así, los ensayos clínicos aleatorizados no han demostrado de manera concluyente que los antioxidantes generalizados mejoran los resultados en pacientes sépticos. Una posible razón para

los resultados mixtos de los estudios de antioxidantes puede ser un objetivo ineficaz de la terapia antioxidante. A este respecto, varios estudios en animales han probado la administración dirigida, y han demostrado, por ejemplo, que la SOD conjugada con anticuerpos dirigidos a endosomas endoteliales tuvo efectos beneficiosos en ratones expuestos a endotoxinas [34]. Patil et al. [35] probaron antioxidantes dirigidos a la mitocondria, MitoTEMPO, en ratones inducidos sepsis, y encontraron una mejor función del órgano y una mayor supervivencia. Otra área emergente de interés es la posibilidad de dirigir los mecanismos de reparación endotelial con células progenitoras endoteliales, pero, aunque prometedora, todavía hay mucho por conocer.

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

La función de barrera endotelial alveolar también está regulada por miembros de la familia conexina (Cx), que forman canales funcionales de unión en el endotelio y permiten el flujo célula a célula de pequeñas

moléculas y solutos [38]. La inhibición de esta Cx evita el aumento de la permeabilidad endotelial observado en un modelo experimental de lesión pulmonar.

El glicocáliz establece una frontera muy amplia de posibles objetivos farmacológicos, el gran salto en la investigación científica de los resultados alentadores en estudios experimentales en animales (murinos); como inhibición de la Heparanasa [32], o estimulación de receptores como S1P, esfingosina-1-fosfato con la subsecuente activación de la vía Rac – 1 que genera una reparación de los núcleos proteicos sindecano-1; ah un beneficio en la humanidad es necesario. De ahí la perspectiva de trasladar estos enfoques moleculares en sustancias farmacológicas que generen un beneficio concreto en objetivos tan fuertes como la mortalidad en el paciente séptico.

CONCLUSIONES

- Una estructura de micras de diámetro que recubre todas las células endoteliales; Glicocáliz podría ser la llave de la microcirculación el punto de fractura entre la regulación y la desregulación de la inflamación en la sepsis, su reconstitución pone en orden la homeostasis de las células endoteliales en el cuerpo humano, en procesos críticos como es el tono vascular, la homeostasis de la coagulación, el flujo de líquidos/solutos y el control de la inflamación. Sus compuestos de degradación

podrían ser herramientas útiles no solo como diagnósticas, más bien marcadores tempranos que predicen progresión a sepsis, su poder predictivo de mortalidad los vuelve en posibles guías de reanimación temprana dirigida a la microcirculación. Y en el detalle de sus vías moleculares innumerables objetivos farmacológicos que en el tiempo y escenario clínico correcto podrían dar un giro a la batalla estacionaria que llevamos en las unidades de terapia intensiva en relación a la mortalidad de choque séptico 40%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] M. Singer, C. S. Deutschman, C. W. Seymour et al., “The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3),” *The Journal of the American Medical Association*, vol. 315, no. 8, pp. 801–810, 2016
- [2] M. E. Bianchi, “DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger,” *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 81, no. 1, pp. 1–5, 2007.
- [3] Aird WC. Endothelial cell heterogeneity. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012; 2:a006429. [PubMed: 22315715]
- [4] Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng*. 2007; 9:121–167. [PubMed: 17373886]
- [5] Stepan J, Hofer S, Funke B, Brenner T, Henrich M, Martin E, et al.

Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalyx. *J Surg Res*. 2011;165:136–41

- [6] Gunst J, Derese I, Aertgeerts A, Ververs EJ, Wauters A, Van den Berghe G, et al. Insufficient autophagy contributes to mitochondrial dysfunction, organ failure, and adverse outcome in an animal model of critical illness. *Crit Care Med*. 2013;41:182–94
- [7] Karamysheva AF. Mechanisms of angiogenesis. *Biochemistry (Mosc)*. 2008;73:751–62
- [8] B.F.Becker,D. Chappell,D.Bruegger, T.Anneck, andM. Jacob, “Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential,” *Cardiovascular Research*, vol. 87, no. 2, pp. 300–310, 2010
- [9] G. Chen, D. Wang, R. Vikramadithyan et al., “Inflammatory cytokines and fatty acids regulate endothelial cell heparanase expression,” *Biochemistry*, vol. 43, no. 17, pp. 4971–4977, 2004
- [10] R. Goldberg, A.Meirovitz, N. Hirshoren et al., “Versatile role of heparanase in inflammation,” *Matrix Biology*, vol. 32, no. 5, pp. 234–240, 2013
- [11] K. J.Goodall, I.K.H.Poon, S. Phipps, andM.D.Hulett, “Soluble heparan sulfate fragments generated by heparanase trigger the release of pro-inflammatory cytokines through TLR-4,” *PLoS ONE*, vol. 9, no. 10, Article IDe109596, 2014
- [12] Bolon ML, Peng T, Kidder GM, Tyml K. Lipopolysaccharide plus

- hypoxia and reoxygenation synergistically reduce electrical coupling between microvascular endothelial cells by dephosphorylating connexin40. *J Cell Physiol.* 2008; 217:350–359. [PubMed: 18521823]
- [13] Forni M, Mazzola S, Ribeiro LA, Pirrone F, Zannoni A, Bernardini C, Bacci ML, Albertini M. Expression of endothelin-1 system in a pig model of endotoxic shock. *Regul Pept.* 2005; 131:89–96. [PubMed: 16043243]
- [14] Send to *Acta Physiol (Oxf)*. 2018 Jan;222(1). doi: 10.1111/apha.12860. Epub 2017 Mar 22. Mind the gap: mechanisms regulating the endothelial barrier. Radeva MY1, Waschke J1.
- [15] Woodcock TE, Woodcock TM. Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: an improved paradigm for prescribing intravenous fluid therapy. *Br J Anaesth.* 2012;108:384–94.
- [16] Serpa Neto A, Veelo DP, Peireira VG, de Assunção MS, Manetta JA, Espósito DC, et al. Fluid resuscitation with hydroxyethyl starches in patients with sepsis is associated with an increased incidence of acute kidney injury and use of renal replacement therapy: a systematic review and meta-analysis of the literature. *J Crit Care.* 2014;29:185.e1-7
- [17] Caironi P, Tognoni G, Masson S, Fumagalli R, Pesenti A, Romero M, et al. Albumin replacement in patients with severe sepsis or septic shock. *N Engl J Med.* 2014;370:1412–21

- [18]. Endothelium—role in regulation of coagulation and inflammation Victor W. M. van Hinsbergh *Semin Immunopathol* (2012) 34:93–106 DOI 10.1007/s00281-011-0285-5
- [19] S. R. Ostrowski, R. M. G. Berg, N. A. Windeløv et al., “Coagulopathy, catecholamines, and biomarkers of endothelial damage in experimental human endotoxemia and in patients with severe sepsis: a prospective study,” *Journal of Critical Care*, vol. 28, no. 5, pp. 586–596, 2013.
- [20] M. Sallisalmi, J. Tenhunen, R. Yang, N. Oksala, and V. Pettilä, “Vascular adhesion protein-1 and syndecan-1 in septic shock,” *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, vol. 56, no. 3, pp. 316–322, 2012
- [22] Syndecan-1 as a biomarker for sepsis survival after major abdominal surgery. Holzmann MS, Winkler MS, Strunden MS, Izbicki JR, Schoen G, Greiwe G, Pinnschmidt HO, Poppe A, Saugel B, Daum G, Goetz AE, Heckel K. *Biomark Med.* 2018 Feb;12(2):119-127. doi: 10.2217/bmm-2017-0231. Epub 2018 Jan 12.
- [23] *J Crit Care.* 2018 Feb;43:48-53. doi: 10.1016/j.jcrc.2017.07.049. Epub 2017 Jul 28. Circulating syndecan-1 predicts the development of disseminated intravascular coagulation in patients with sepsis. Ikeda M1, Matsumoto H2, Ogura H3, Hirose T4, Shimizu K5, Yamamoto K6, Maruyama I7, Shimazu T8.
- [24] A. Nelson, I. Berkestedt, and M. Bodelsson, “Circulating glycosaminoglycan species in septic shock,” *Acta Anaesthesiologica*

Scandinavica, vol. 58, no. 1, pp. 36–43, 2014.

[25]. Diagnostic and prognostic value in patients suffering from severe sepsis and septic shock. Pauly D1, Hamed S1, Behnes M1, Lepiorz D1, Lang S1, Akin I1, Borggreffe M1, Bertsch T2, Hoffmann U3 J Crit Care. 2016 Feb;31(1):68-75. doi: 10.1016/j.jcrc.2015.09.019. Epub 2015 Sep 25

[26] Concentration and value of endocan on outcome in adult patients after severe sepsis. Hsiao SY, Kung CT, Tsai NW, Su CM, Huang CC, Lai YR, Wang HC, Cheng BC, Su YJ, Lin WC, Chiang YF, Lu CH. Clin Chim Acta. 2018 Aug;483:275-280. doi: 10.1016/j.cca.2018.05.007. Epub 2018 May 8

[27] Send to Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue. 2017 Apr;29(4):321-326. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.04.007.

[Clinical value of serum endocan and procalcitonin in early diagnosis and prognosis evaluation of sepsis]

[28] Bellani G, Lafey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries. JAMA. 2016;315:788–800

[29] Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin definition. JAMA. 2012;307:2526–33

[30] Tang L, Zhao Y, Wang D, Deng W, Li C, Li Q, et al. Endocan

levels in peripheral blood predict outcomes of acute respiratory distress syndrome. Mediators Inflamm. 2014;2014:625180.

[31] Endocan as an early biomarker of severity in patients with acute respiratory distress syndrome. Orbegozo D, Rahmania L, Irazabal M, Mendoza M, Annoni F, De Backer D, Creteur J, Vincent JL. Ann Intensive Care. 2017 Sep 7;7(1):93. doi: 10.1186/s13613-017-0311-4

[32] L. Martin, R. De Santis, P. Koczera et al., “The synthetic antimicrobial peptide 19-2.5 interacts with heparanase and heparan sulfate in murine and human sepsis,” PLoS ONE, vol. 10, no. 11, Article ID e0143583, 2015.

[33] Ye Zeng,¹ Roger H. Adamson,² Fitz-Roy E. Curry,² and John M. Tarbell¹, Sphingosine-1-phosphate protects endothelial glycocalyx by inhibiting syndecan-1 shedding Am J Physiol Heart Circ Physiol 306: H363–H372, 2014.

[34] Patil NK, Parajuli N, MacMillan-Crow LA, Mayeux PR. Inactivation of renal mitochondrial respiratory complexes and manganese superoxide dismutase during sepsis: mitochondria-targeted antioxidant mitigates injury. Am J Physiol Renal Physiol. 2014; 306(7):F734–F743. [PubMed: 24500690].

[35] Legrand M, Kandil A, Payen D, Ince C. Effects of sepiapterin infusion on renal oxygenation and early acute renal injury following supra-renal aortic clamping in rats. J Cardiovasc Pharmacol. 2011; 58:192–198. [PubMed: 21562427].

[36] Chappell D, Jacob M, Hofmann-Kiefer K, Bruegger D, Rehm M, Conzen P, Welsch U, Becker BF. Hydrocortisone preserves the vascular barrier by protecting the endothelial glycocalyx. *Anesthesiology*. 2007; 107:776–784. [PubMed: 18073553].

[37] Johannes T, Mik EG, Klingel K, Dieterich HJ, Unertl KE, Ince C. Low-dose dexamethasone supplemented fluid resuscitation reverses Endotoxin-induced acute renal failure and prevents cortical microvascular hypoxia. *Shock*. 2009; 31:521–528. [PubMed: 18827749]

[38] Parthasarathi K. Endothelial connexin43 mediates acid-induced increases in pulmonary microvascular permeability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2012; 303:L33–L42. [PubMed: 22561459].

GLICOCALIX, SU ROL EN EL PACIENTE ONCOLÓGICO Y ENFOQUE TRASLACIONAL

Dr. Fernando Jara González

Capítulo 6

GLICOCALIX, SU ROL EN EL PACIENTE ONCOLÓGICO Y ENFOQUE TRASLACIONAL

Dr. Fernando Jara González

Medico especialista en medicina crítica y terapia intensiva

*“Nunca consideres el estudio como una obligación,
sino como una oportunidad para penetrar en el
bello y maravilloso mundo del saber.”
-Albert Einstein.*

INTRODUCCIÓN

Las células del organismo, están recubiertas por glucocalix (GCX), una malla de polímero, conformada por proteínas y azúcares, que sirven de protección. Los cambios específicos del cáncer, alimentan la síntesis de bloques de construcción monoméricos y la maquinaria para la producción de polímeros de cadena larga que alteran la estructura física y química del GCX(1). Así el transporte y migración de células tumorales, está relacionados con las modificaciones estructurales de las células endoteliales (CE) y de las células tumorales circulantes (CTC).

El GCX de las células endoteliales en condiciones fisiológicas, cumple con una función de barrera, evitando la adhesión de células tumorales al endotelio vascular. Sin embargo: la inflamación, la tensión de cizallamiento “shear stress”, la presión intersticial dentro del microambiente tumoral, generan cambios, que remodelan o

desprenden el GCX de las CE, lo cual facilita la adhesión de las células tumorales, y en consecuencia, se producen cambios en la señalización celular, proliferación, y migración de las mismas.

No solamente el GCX endotelial se ve afectado, pues, además, las CTC modifican su GCX, recubriéndose con una gruesa capa de hialuronano, que sirve como escudo, facilitando con ello la adhesión a los ligandos de las CE e impidiendo la llegada de sustancias terapéuticas hacia los ligando de su superficie de la célula tumoral.

En este capítulo intentamos llevar al lector, a conocer algunos mecanismos relacionados con el glucocalix y la proliferación tumoral, su enfoque traslacional, se explicará por lo objetivos actuales de diagnóstico y terapéuticos, muchos de ellos aun experimentales, pero que se relacionan directamente con el cáncer, glucocalix y metástasis.

ESTRUCTURA DEL GLICOCALIX

Como se ha mencionado en capítulos previos de este libro, la estructura del glucocalix juega un papel importante, y su conocimiento, será la clave para el entendimiento de la presente revisión por lo cual iniciaremos con una breve reseña.

Las enfermedades como: aterosclerosis, eventos cerebro vasculares, hipertensión, enfermedad renal y sepsis, están asociadas con degradación del GCX, mientras que el crecimiento de células tumorales y metástasis están asociadas con GCX excesivamente grueso o robusto (2).

Estructuralmente un tejido consiste de células envueltas por glicocalix (parcial o completamente) matriz extracelular, microvasos y linfáticos(3). Por lo tanto, existe una cantidad de glicocáliz intercalado entre la matriz celular y la membrana celular dependiendo del tipo de célula y tejidos, así como del tipo de biosistema. Los glicanos encontrados en el GCX, son principalmente glicoproteínas y proteoglicanos.(fig.1; fig. 2)

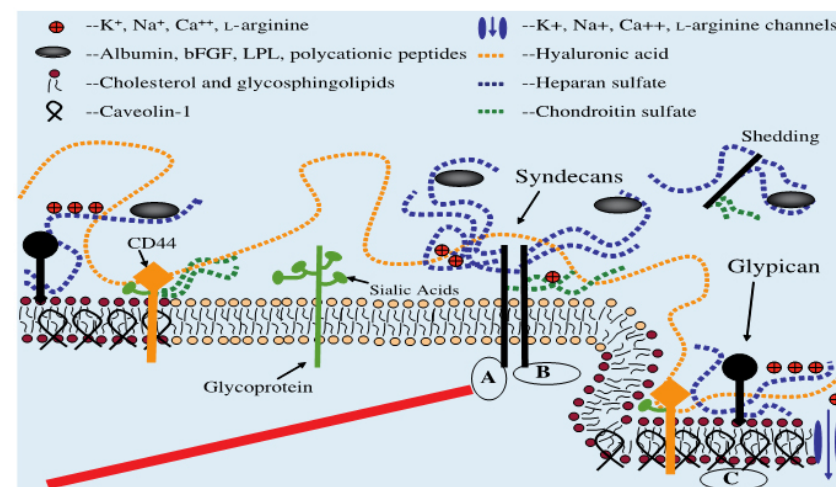
Las glicoproteínas son glicoconjugados en los que una proteína porta uno o más glicanos unidos covalentemente a un esqueleto polipeptídico. Los receptores en la superficie de la célula endotelial: E-selectina y P-selectina, integrinas y miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas tales como la molécula de adhesión celular 1 y la molécula de adhesión de células vasculares 1, que facilitan la adhesión durante proceso de inflamación, son ejemplos de estos(4)(5).

Los proteoglicanos están compuestos de proteínas del núcleo con cadenas de glicosaminoglicanos (GAG) y sialoglicoproteínas unidas covalentemente. Estas proteínas del núcleo se incorporan en la membrana celular, mediante un anclaje de glicosilfosfatidilinositol (glipican) o un dominio transmembrana que se une al citoesqueleto (sindecans) mientras que las cadenas de GAG, se extienden dentro del espacio extracelular.(6).

El heparan sulfato (HS), condroitin sulfato (CS) y ácido hialurónico o hialuronano (AH) son los GAG dominantes en la mayoría de las

superficies celulares. Los GAG son polímeros lineales largos de cientos a miles de unidades de disacáridos que tienen una fuerte carga negativa y son hidrófilos.

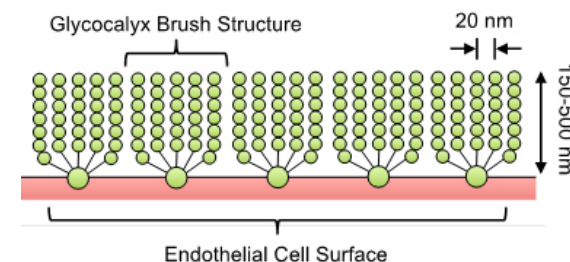
La matriz extracelular, secreta proteoglicanos (agrecan, perlacan, decorin, biglican) con GAG adicionales (sulfato de dermatán, sulfato de queratán), y glicoproteínas adhesivas (fibronectina, laminina, tancasin), que son importantes para la integridad estructural de los tejidos.



(fig.1) Representación de proteoglicanos y glicoproteínas en la superficie de célula endotelial (EC). Caveolin-1 se asocia con regiones con alto contenido de colesterol y esfingolípidos en la membrana (círculos más oscuros, izquierda) y forma estructuras tipo cueva, caveolae (derecha). Glipicans, junto con sus cadenas HS (líneas

de puntos azules) se localizan en estas regiones. Los sindecanes transmembrana se agrupan en el borde externo de las caveolas. Además de HS, los sindecanes también contienen CS, menor en su núcleo (líneas de puntos verdes). Una glicoproteína con sus cadenas ramificadas oligosacáridas cortas y sus ácidos sialicos (SA) ‘caps’ asociadas se muestran en la parte media de la figura (verde). Ácido hialurónico (HA) es un glucosamino glucano (GAG) muy largo (línea de puntos naranja), que se teje en el glicocalix y se une con CD44. Transmembrana CD44 puede tener condroitinsulfato (CS), heparan sulfato (HS) y oligosacáridos unidos a él, y se localiza en caveolae. Las proteínas plasmáticas (gris), junto con los cationes y los aminoácidos catiónicos (círculos rojos) se asocian con los GAG. La división proteolítica puede arrojar un proteoglicano de la superficie (arriba a la derecha). (a) Los dominios citoplásmicos de los sindecanes pueden asociarse con moléculas, tales como ezrin, dynamin-2, syntenin, syndesmos y a-actinin, que lo unen a elementos del citoesqueleto (línea roja). (b) La oligomerización de sindecanes les ayuda a establecer asociaciones directas con los efectores de señalización intracelular, como PKCa. (c) Una serie de moléculas involucradas con la señalización de eNOS se localizan en caveolas: eNOS inactiva en sí misma, receptores acoplados a proteína G, numerosas quinasas, así como aminoácidos catiónicos y canales de cationes. (Esta caricatura no está dibujada a escala, y algunos archivos adjuntos GAG fueron

omitidos por simplicidad. Para su entendimiento algunos términos se han conservado en el idioma original.(imagen tomada de Tarbell y Pahakis)(6).



(fig.2) Glicocalix de la células endoteliales puede extenderse 150 – 500 nm desde la superficie celular endotelilal, con espacios de 20nm entre los componentes del glicocalix. (imagen tomada de Mitchell, modificada desde Weinbaum et al)(7)(8).

FISIOPATOLOGÍA EN EL CÁNCER

Estructura del glicocalix en la célula tumoral

El efecto Warburg considerado uno de los mecanismos de las células tumorales para obtener energía a través de glucólisis aeróbica, ha sido uno de los mecanismos enigmáticos más estudiado. Sin embargo, hoy tras varias décadas de investigación se sabe, que las células tumorales, re estructuran su metabolismo energético mediante la construcción de bloques que satisfacen las necesidades anabólicas y de crecimiento rápido, con un aporte de mayor de glucosa y nutrientes. Esta reprogramación metabólica favorece el aporte de nutrientes para la construcción de bloques relacionados principalmente con la síntesis

de glicanos.(9)(10).

El GCX de la célula tumoral, al igual que el GCX células endotelial (EC), está formado por una gran variedad de proteoglicanos y GAG, además de proteínas fibrosas, como colágeno, que comprenden la matriz extracelular (11).

El GCX de las células tumorales circulantes y las células endoteliales de los vasos sanguíneos son los aspectos probables que regulan el espaciamiento y el sitio de las interacciones entre los receptores y los ligandos. La interacción entre el GCX del endotelio de los vasos sanguíneos y las células tumorales circulantes, se ha considerado como la teoría “semilla- suelo”. En la cual se considera a la célula tumoral como la semilla, y al suelo como el órgano distante, que permite el microambiente adecuado para el crecimiento, angiogénesis, invasión y sobrevida.

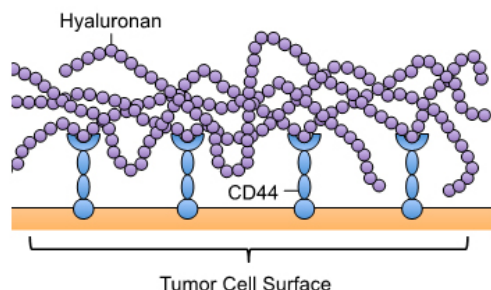
En células cancerígenas el GCX es generalmente robusto, promoviendo la agrupación de integrinas, la señalización del factor de crecimiento, y la mecanotransducción, debida a la tensión de cizallamiento del flujo intersticial elevado en los tumores, para regular positivamente la liberación de metaloproteinasas de la matriz que potencian la motilidad y metástasis celular(6).

El GCX voluminoso sobre todo produce (a) el agrupamiento de integrinas unidas a la membrana al convergerlas y (b) cambia el estado de las integrinas al elevar la tensión sobre las integrinas unidas a la

matriz. Este cambio promueve la adhesión, que causa la activación de los factores de crecimiento dependiente de las integrinas esto da como resultado una señalización elevada y mejora el crecimiento celular y la supervivencia(12).

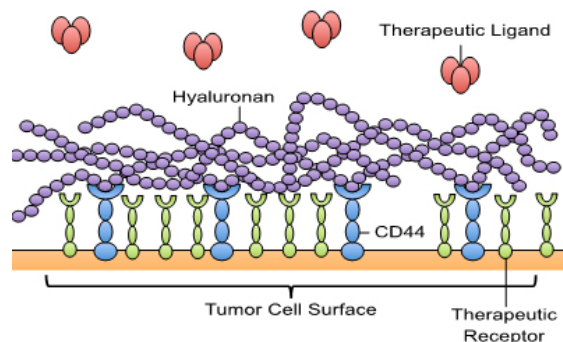
Mencionado anteriormente, el efecto Warburg, deriva, grandes cantidades de nutrientes y glucosa a la vía hexosamina, lo que genera monómeros nucleótidos de azúcar, para la construcción de la cadena de glicanos. El Acido hialurónico (AH) es un ejemplo, de cómo la captación de glucosa, la programación metabólica y la síntesis de polímeros, están estrechamente relacionados. Alimentar células de un cultivo con glucosa o glucosamina, genera N – acetilglucosamina como intermediario de la vía hexosamina, lo cual incrementa en gran medida el contenido de AH en el GCX celular(13).

En la transformación maligna de las células tumorales, se produce una alteración en la formación de hialuronano, o ácido hialurónico (AH) el cual es producido en exceso. Los genes de hialuronano sintasa (HAS1;HAS2; HAS3), codifican enzimas que regulan la síntesis de hialuronano, así como la formación de matrices y el tamaño molecular de hialuronano(14), sin embargo en las células tumorales los genes de hialuronano sintasa incrementan, lo cual produce un exceso de hialuronano. La expresión del receptor de superficie celular CD44 de hialuronano, también incrementa en las células tumorales. (fig.3)



(fig.3) GCX de las células tumorales es caracterizado por un gran contenido de hialuronano, que está unido a la membrana de la célula tumoral por CD44 (imagen tomada de Mitchell)(7).

Los altos niveles de expresión de hialuronano pueden crear una matriz de tejido conectivo hidratado, que se puede unir a la superficie de la célula tumoral a través de CD44 para formar una capa protectora alrededor de la célula tumoral(15). Esta cobertura limita la unión del fármaco a los sitios de unión terapéutica en la CTC.(fig.4)



(fig.4) La sobreexpresión de componentes de glicocalix, tales como hialuronano, puede crear una barrera molecular para “proteger” receptores de unión terapéutica de la interacción con ligandos

terapéuticos. (imagen tomada desde Mitchell (6))

Se encontró que el aumento de la producción de hialuronano aumenta la presión del líquido intersticial en tumores sólidos, lo que puede limitar el suministro de productos terapéuticos a través de la circulación al colapsar los vasos sanguíneos(16)(17) cercanos y eliminar el transporte de agentes terapéuticos impulsados por la diferencia hacia el interior del tumor.

El flujo metabólico a través de la vía hexosamina también se asocia con la O-glicosilación de tipo mucina descendente, sialilación y polisialilación en células cancerosas, lo que sugiere amplias consecuencias del efecto de Warburg sobre las estructuras de glicocalix. El estado de sialilación juega un papel importante en la capacidad de una célula para desencadenar o evadir el reconocimiento inmunológico. Se considera al sialoma como el eje central de modulación inmune, que no ha sido estudiado en el cáncer(18). Los glucanos que terminan en residuos de ácido siálico, pueden suprimir la activación inmune. (19) Los sialósidos de la superficie celular pueden reclutar lectinas similares a inmunoglobulina (Ig) que se unen al ácido siálico (Siglecs), que se encuentran en la mayoría de los tipos de leucocitos, a la sinapsis inmunológica.

Los tumores que remodelan su GCX, al sobre expresar glicoproteínas voluminosas como mucinas, exhiben una mayor predisposición a metástasis(20). La mayor parte de MUC1 reside fuera de la célula

donde domina las propiedades físicas del glicocalix. En trabajos previos, mostramos que este ectodominio influye profundamente en la formación de adherencias focales, la señalización de integrinas y la supervivencia en un entorno de adhesión mínima. (12). Las mucinas mejoran profundamente las propiedades físicas del glicocalix, y la letalidad de varios tipos de cáncer está fuertemente correlacionada, con el aumento en la producción de mucinas.

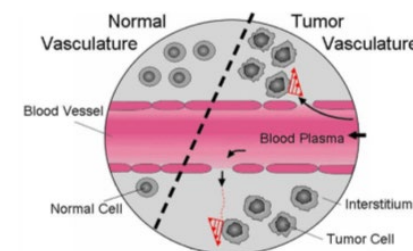
Las células epiteliales normales suelen estar polarizadas, manteniendo las mucinas grandes en la superficie superior o apical de la célula. Una pérdida de polaridad celular es una característica común en el cáncer y puede redistribuir los polímeros en cepillo, para cubrir toda la superficie celular(21).

Migración de las células tumorales

El tumor primario, se ha considerado como el origen de las células cancerosas, estas células se desprenden, y a través del proceso conocido como extravasación (22), circulan por los capilares sanguíneos, como células tumorales libres. Las células inicialmente se unen y ruedan sobre el endotelio activado, se adhieren firmemente y luego transmigran a través de la pared del vaso sanguíneo hacia el tejido inflamado(23)(24). Se cree que estas células a través de mecanismos de adhesión al GCX endotelial, pueden empezar mecanismos de división lo que dará origen a un tumor secundario(7).

El GCX endotelial de vasos sanguíneos y microvasos actúa como

una barrera de permeabilidad y también proporciona un medio de fuerzas efectivas de mecanotransducción y fuerzas cizallamiento hidrodinámicas. Cambios en las células tumorales circulantes y el grosor de GCX son dos factores que probablemente están relacionados con la migración a través de las paredes de los microvasos.(8). (fig.5)



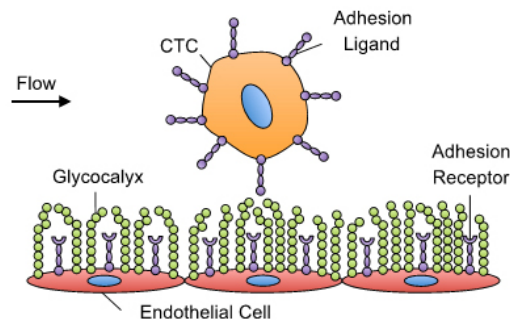
(fig.5) Aumento del flujo intersticial en capilares, a la derecha se evidencia la fuga de células tumorales debido al estrés, en comparación con los capilares normales a la izquierda. (Imagen tomada de Tarbell y Cancel)(2)

En las células tumorales, hay un aumento del estrés puro, debido a la activación de la mecanotransducción dentro del ambiente intersticial del tumor, y además incremento en la señalización de factores de crecimiento y agrupamiento de integrinas. Todo esto, incrementa la liberación de metaloproteinasas (MMP) que son responsables de movilidad celular y metástasis. Así mismo las células tumorales tienen niveles elevados de heparan sulfato y ácido hialurónico que incrementan el crecimiento celular y metástasis(6)

La selectina E ha demostrado facilitar las metástasis del cáncer in vivo.

Así mismo se considera que puede influir en la adhesión y circulación de células tumorales que se originan en la mama(25)(26), colon(27)(26), y próstata(28)(29). Los niveles elevados de E-selectina circulante se han asociado con metástasis de células de carcinoma de mama y de colon al hígado(30)(31).

Las moléculas de adhesión como el ICAM-1 y selectinas de la superficie de la célula endotelial, pueden alcanzar una longitud de 20 a 40 nm(32)(33). Sin embargo, el grosor del glicocalix es mucho mayor, lo que dificulta la adhesión celular mediada por receptor, en condiciones de flujo fisiológico.



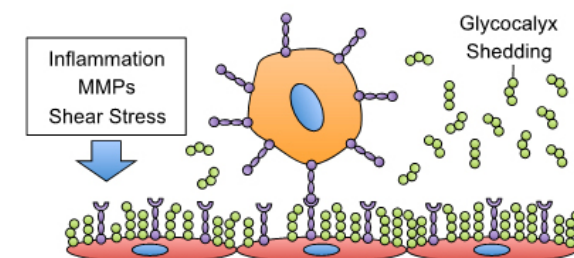
(fig.6) Bajo condiciones fisiológicas, el grosor del glicocalix de las células endoteliales es más largo que la mayoría de los receptores de adhesión y actúa como barrera para la adhesión celular (imagen tomada de Mitchell)(7).

Múltiples estudios, utilizando leucocitos, han mostrado que la disminución del grosor del GCX, se relaciona directamente con el incremento de la adhesión celular(34)(35).

Esto se potencia debido a la facilidad de la interacción entre el pequeño tamaño de los receptores (alrededor de <100 nm) y el grosor reducido de GCX de microvasos (menor o alrededor de $0,5 \mu\text{m}$)(36). (fig.6)

Alteraciones como tensión de cizallamiento, condiciones de inflamación, y exposición de la matrix de metaloproteinasas (MMP) pueden causar desprendimiento y remodelación del glicocalix, incrementando el número de receptores disponibles, para unirse a los ligandos de adhesión de las células circulates tumorales. Proteasas de la matrix celular, pueden alterar el GCX de las células endoteliales, provocando desprendimiento, la mayor expresión de estas ha sido relacionada con la lesión vascular, con áreas de adhesión plaquetaria. En cambio el desprendimiento del GCX, puede estar regulado por MMP derivadas del endotelio, así como a la sobre expresión de MMPs en las células tumorales, de las cuales las MMP2 y MMP9, han sido estudiadas(24)

fig.7 Cambios con desprendimiento del glicocalix (imagen tomada Mitchell)(7)



ENFOQUE TRASLACIONAL

Remark et al, analizaron la superficie luminal de personas sanas y con neoplasias del tejido colorrectal, en relación a la presencia y arquitectura del glicocalix, se determinó que 93% de las personas sanas tuvieron el glicocalix intacto, al contrario, en el 90% de superficie de células neoplásicas, el glucocalix estuvo ausente. La sensibilidad y especificidad del marcador “ausencia de glicocalix” es excelente iniciando con 91% (83–96%) y 96% (89–99%) para adenocarcinomas y 94% (73–100%) y 92% (85–97%) para pólipos precancerosos(37). Glucoconjugados liberados por las células tumorales se pueden medir en el torrente sanguíneo y se usan como marcadores tumorales de cánceres específicos, su principal papel consiste en ayudar a controlar la evolución del cáncer y la respuesta a la terapia. Es el caso de CA19.9, CA125, CA15.3, CA27-29, todas las mucinas con un alto contenido de glicanos indicativo de una situación tumoral.

Los fenotipos de cáncer más agresivos y letales a menudo se correlaciona con la expresión abundante de biopolímeros de alto peso molecular que forman un glicocalix grueso y, a menudo denso, en la superficie de la célula cancerosa(12)

El MUC1 y MUC16, son mucinas de superficie celular, sobre reguladas en cánceres epiteliales, que se usan como biomarcadores de la enfermedad(38). Los niveles altos de MUC1 en el tumor pueden predecir la metástasis, la respuesta deficiente del paciente al

tratamiento y la baja tasa de supervivencia del paciente en cánceres múltiples, incluidos los de origen mamario, pulmonar, gastrointestinal y pancreático(21)(39).

Un alto contenido de hialuronano estromal se asocia con tumores poco diferenciados y un comportamiento clínico agresivo en adenocarcinomas humanos(11)

Se han detectado niveles elevados de HA en los linfomas agresivos de células B, como el linfoma difuso de células B grandes(40)

Los receptores bien conocidos que promueven el cáncer incluyen la familia de receptores tirosina quinasas (RTK), como los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), el receptor 2 del crecimiento epidérmico humano (HER2) y c-MET(41)(42).

El heparan sulfato (HS) componente del GCX, ha sido estudiado por Qazi et al, principalmente por su papel en la mecanotransducción y sobre el potencial invasivo metastásico. En su estudio, se demuestra la primera evidencia en animales, en donde la reducción del HS de las células tumorales como método para suprimir la invasión local y las metástasis a distancia.(43).

Hialuronidasa, es una enzima que degrada el glicocalix, por lo cual ha sido estudiada, con el objetivo de mejorar el blanco terapéutico sobre las células tumorales al degradar su glicocalix.

Dado su papel fisiológico y su presencia en todo el cuerpo humano, la administración sistémica de hialuronidasa podría tener efectos

secundarios no deseados. La degradación enzimática a través de hialuronidasa puede inducir inflamación y dolor en las articulaciones, y debido a su sensibilidad al pH y corta vida media en suero, es difícil administrar de manera eficiente.

Rai et al (44). Demostraron que las células metastasis de cáncer de pulmón facilitan su propia adhesión al endotelio cerebral al secretar factores que dañan el glicocalix endotelial, lo que resulta en la exposición de las moléculas de adhesión previamente protegidas y el compromiso del eje de adhesión mediado por E-selectin

Las estrategias terapéuticas de CTC que implican dirigirse a selectina E se ven interrumpidas por el CGX de las CTC, bloqueando las interacciones con los ligandos de selectina E y los receptores de muerte en CTC. Las enzimas que degradan el GCX pueden así aumentar la disponibilidad de ligandos de CTC con fines terapéuticos

Poco se conoce sobre el glicocalix que recubre las CTC, y la resistencia que este genera a los agentes terapéuticos. Las CTC sufren procesos apoptoicos en la sangre(45). Es probable que este glicocalix grueso y estructuralmente diferente, confiera la capacidad de resistencia a las células que mestastatizan órganos distantes, principalmente evadiendo el anoikis (46) (muerte celular en respuestas a inadecuada interacción entre la célula y la matriz extracellar)(47)

Los sialosidos, de las células tumorales, constituyen eje central de la inmunidad para evadir la destrucción inmune tanto inanta como

adquirida. Las estrategias terapéuticas que se dirigen a los sialósidos pueden, por lo tanto, potenciar la inmunidad antitumoral. el uso de conjugados que permiten actuar sobre el factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2), a través de sialidasas unidas anticuerpos (trastuzumab) aumentan la sensibilidad de las células tumorales a la citotoxicidad.(48).

Actualmente, la FDA tiene aprobado diez terapias contra HER2 / EGFR a partir de 2016 y fármacos e base a anticuerpos que están disponibles para los cánceres de mama HER2-positivos(49).

La regulación del cáncer de sialosidos no se entiende tan bien como para la AH, pero la sobreexpresión de sus enzimas sintéticas también predice una pobre supervivencia del paciente en varios tipos de cáncer(50).

Aunque en la actualidad, muchos de los trabajos son experimentales, el estudio de las poblaciones oncológicas, en cuanto a la necesidad de diagnóstico y tratamiento tempranos para combatir el cáncer, aún no han logrado, en la mayoría de estos ser realizados en humanos. Falta mucho por descubrir, de este interesante campo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kuo JC-H, Gandhi JG, Zia RN, Paszek MJ. Physical biology of the cancer cell glycocalyx. Nat Phys. 2018 Jul;14(7):658–69.
- Tarbell JM, Cancel LM. The glycocalyx and its significance in human medicine. J Intern Med. 2016;280(1):97–113.

- Lahir. Understanding the basic role of glycocalyx during cancer [Internet]. [cited 2018 Jun 20]. Available from: <http://www.journalrcr.org/article.asp?issn=0973-0168;year=2016;volume=7;issue=3;spage=79;epage=84;aulast=Lahir>
- Tarbell JM, Simon SI, Curry F-RE. Mechanosensing at the vascular interface. *Annu Rev Biomed Eng.* 2014 Jul 11;16:505–32.
- Soto MS, Serres S, Anthony DC, Sibson NR. Functional role of endothelial adhesion molecules in the early stages of brain metastasis. *Neuro-Oncol.* 2014 Apr;16(4):540–51.
- Tarbell JM, Pahakis MY. Mechanotransduction and the glycocalyx. *J Intern Med.* 2006 Apr;259(4):339–50.
- Mitchell MJ, King MR. Physical biology in cancer. 3. The role of cell glycocalyx in vascular transport of circulating tumor cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2014 Jan 15;306(2):C89–97.
- Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng.* 2007;9:121–67.
- Pavlova NN, Thompson CB. The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metab.* 2016 Jan 12;23(1):27–47.
- Wellen KE, Lu C, Mancuso A, Lemons JMS, Ryczko M, Dennis JW, et al. The hexosamine biosynthetic pathway couples growth factor-induced glutamine uptake to glucose metabolism. *Genes*

- Dev.* 2010 Dec 15;24(24):2784–99.
- Sironen RK, Tammi M, Tammi R, Auvinen PK, Anttila M, Kosma V-M. Hyaluronan in human malignancies. *Exp Cell Res.* 2011 Feb 15;317(4):383–91.
- Paszek MJ, DuFort CC, Rossier O, Bainer R, Mouw JK, Godula K, et al. The cancer glycocalyx mechanically primes integrin-mediated growth and survival. *Nature.* 2014 Jul 17;511(7509):319–25.
- Siiskonen H, Kärnä R, Hyttinen JM, Tammi RH, Tammi MI, Rilla K. Hyaluronan synthase 1 (HAS1) produces a cytokine- and glucose-inducible, CD44-dependent cell surface coat. *Exp Cell Res.* 2014 Jan;320(1):153–63.
- Itano N, Sawai T, Yoshida M, Lenas P, Yamada Y, Imagawa M, et al. Three isoforms of mammalian hyaluronan synthases have distinct enzymatic properties. *J Biol Chem.* 1999 Aug 27;274(35):25085–92.
- Rilla K, Tiihonen R, Kultti A, Tammi M, Tammi R. Pericellular Hyaluronan Coat Visualized in Live Cells With a Fluorescent Probe Is Scaffolded by Plasma Membrane Protrusions. *J Histochem Cytochem.* 2008 Oct;56(10):901–10.
- Boucher Y, Jain RK. Microvascular pressure is the principal driving force for interstitial hypertension in solid tumors: implications for vascular collapse. *Cancer Res.* 1992 Sep

- 15;52(18):5110–4.
- Fukumura D, Jain RK. Tumor microenvironment abnormalities: causes, consequences, and strategies to normalize. *J Cell Biochem.* 2007 Jul 1;101(4):937–49.
 - Boligan KF, Mesa C, Fernandez LE, von Gunten S. Cancer intelligence acquired (CIA): tumor glycosylation and sialylation codes dismantling antitumor defense. *Cell Mol Life Sci CMLS.* 2015 Apr;72(7):1231–48.
 - Varki A, Gagneux P. Multifarious roles of sialic acids in immunity. *Ann N Y Acad Sci.* 2012 Apr;1253:16–36.
 - Woods EC, Kai F, Barnes JM, Pedram K, Pickup MW, Hollander MJ, et al. A bulky glycocalyx fosters metastasis formation by promoting G1 cell cycle progression. *eLife.* 2017 Dec 21;6.
 - Kufe DW. Mucins in cancer: function, prognosis and therapy. *Nat Rev Cancer.* 2009 Dec;9(12):874–85.
 - Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the “seed and soil” hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer.* 2003;3(6):453–8.
 - Cheung LS-L, Raman PS, Balzer EM, Wirtz D, Konstantopoulos K. Biophysics of selectin-ligand interactions in inflammation and cancer. *Phys Biol.* 2011 Feb;8(1):015013.
 - Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.* 2002 Dec 19;420(6917):860–7.
 - Giavazzi R, Foppolo M, Dossi R, Remuzzi A. Rolling and

- adhesion of human tumor cells on vascular endothelium under physiological flow conditions. *J Clin Invest.* 1993 Dec;92(6):3038–44.
- Tözeren A, Kleinman HK, Grant DS, Morales D, Mercurio AM, Byers SW. E-selectin-mediated dynamic interactions of breast- and colon-cancer cells with endothelial-cell monolayers. *Int J Cancer.* 60(3):426–31.
 - Burdick MM, Chu JT, Godar S, Sackstein R. HCELL is the major E- and L-selectin ligand expressed on LS174T colon carcinoma cells. *J Biol Chem.* 2006 May 19;281(20):13899–905.
 - Barthel SR, Wiese GK, Cho J, Opperman MJ, Hays DL, Siddiqui J, et al. Alpha 1,3 fucosyltransferases are master regulators of prostate cancer cell trafficking. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Nov 17;106(46):19491–6.
 - Duda DG, Duyverman AMMJ, Kohno M, Snuderl M, Steller EJA, Fukumura D, et al. Malignant cells facilitate lung metastasis by bringing their own soil. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Dec 14;107(50):21677–82.
 - Wittig BM, Kaulen H, Thees R, Schmitt C, Knolle P, Stock J, et al. Elevated serum E-selectin in patients with liver metastases of colorectal cancer. *Eur J Cancer.* 1996 Jun 1;32(7):1215–8.
 - Eichbaum C, Meyer A-S, Wang N, Bischofs E, Steinborn A, Bruckner T, et al. Breast cancer cell-derived cytokines,

- macrophages and cell adhesion: implications for metastasis. *Anticancer Res.* 2011 Oct;31(10):3219–27.
- Cao TM, Mitchell MJ, Liesveld J, King MR. Stem Cell Enrichment with Selectin Receptors: Mimicking the pH Environment of Trauma. *Sensors.* 2013 Sep 17;13(9):12516–26.
 - Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature.* 1990 Aug 2;346(6283):425–34.
 - Sabri S, Soler M, Foa C, Pierres A, Benoliel A, Bongrand P. Glycocalyx modulation is a physiological means of regulating cell adhesion. *J Cell Sci.* 2000 May 1;113(9):1589–600.
 - Soler M, Desplat-Jego S, Vacher B, Ponsonnet L, Fraterno M, Bongrand P, et al. Adhesion-related glycocalyx study: quantitative approach with imaging-spectrum in the energy filtering transmission electron microscope (EFTEM). *FEBS Lett.* 429(1):89–94.
 - Toole BP, Wight TN, Tammi MI. Hyaluronan-cell interactions in cancer and vascular disease. *J Biol Chem.* 2002 Feb 15;277(7):4593–6.
 - Ramaker K, Bade S, Röckendorf N, Meckelein B, Vollmer E, Schultz H, et al. Absence of the Epithelial Glycocalyx As Potential Tumor Marker for the Early Detection of Colorectal Cancer. *PloS One.* 2016;11(12):e0168801.
 - Bast RC, Hennessy B, Mills GB. The biology of ovarian

- cancer: new opportunities for translation. *Nat Rev Cancer.* 2009 Jun;9(6):415–28.
- Kaur S, Kumar S, Momi N, Sasson AR, Batra SK. Mucins in pancreatic cancer and its microenvironment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013 Oct;10(10):607–20.
 - Bertrand P, Courel M-N, Maingonnat C, Jardin F, Tilly H, Bastard C. Expression of HYAL2 mRNA, hyaluronan and hyaluronidase in B-cell non-Hodgkin lymphoma: Relationship with tumor aggressiveness. *Int J Cancer.* 113(2):207–12.
 - Sever R, Brugge JS. Signal transduction in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015 Apr 1;5(4).
 - Casaletto JB, McClatchey AI. Spatial regulation of receptor tyrosine kinases in development and cancer. *Nat Rev Cancer.* 2012 May 24;12(6):387–400.
 - Qazi H, Shi Z-D, Song JW, Cancel LM, Huang P, Zeng Y, et al. Heparan sulfate proteoglycans mediate renal carcinoma metastasis. *Int J Cancer.* 139(12):2791–801.
 - Rai S, Nejadhamzeeigilani Z, Gutowski NJ, Whatmore JL. Loss of the endothelial glycocalyx is associated with increased E-selectin mediated adhesion of lung tumour cells to the brain microvascular endothelium. *J Exp Clin Cancer Res CR.* 2015 Sep 25;34:105.
 - Méhes G, Witt A, Kubista E, Ambros PF. Circulating Breast

Cancer Cells Are Frequently Apoptotic. *Am J. Pathol.* 2001 Jul;159(1):17–20.

- Yu M, Stott S, Toner M, Maheswaran S, Haber DA. Circulating tumor cells: approaches to isolation and characterization. *J Cell Biol.* 2011 Feb 7;192(3):373–82.
- Gilmore AP. Anoikis [Internet]. *Cell Death and Differentiation.* 2005 [cited 2018 Jul 15]. Available from: <https://www.nature.com/articles/4401723>
- Xiao H, Woods EC, Vukojicic P, Bertozzi CR. Precision glycolyx editing as a strategy for cancer immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci.* 2016 Sep 13;113(37):10304–9.
- Swain SM, Baselga J, Kim S-B, Ro J, Semiglazov V, Campone M, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 2015 Feb 19;372(8):724–34.
- Tanaka F, Otake Y, Nakagawa T, Kawano Y, Miyahara R, Li M, et al. Expression of polysialic acid and STX, a human polysialyltransferase, is correlated with tumor progression in non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 2000 Jun 1;60(11):3072–80.

JORGE LUIS VÉLEZ PAEZ



- ORCID: 0000-0002-6956-4475
- Doctor en Medicina y Cirugía Universidad Central del Ecuador.
- Especialista en Medicina Crítica Universidad San Francisco de Quito.
- Master en Investigación Clínica y Epidemiológica Universidad San Francisco de Quito.
- Posgrado en Epidemiología Hospitalaria Universidad San Luis Gonzága.
- Doctor PhD (c) en Medicina Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- Manejo avanzado de software estadístico SPSS. Escuela Politécnica Nacional e Instituto Superior del Pacífico. (Perú)
- Docente en el posgrado de medicina Crítica y Terapia Intensiva de la Universidad Central del Ecuador y Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Profesor titular agregado de medicina Interna en Universidad

Central del Ecuador.

- Médico Intensivista en Hospital Pablo Arturo Suárez.
- Miembro de la Sociedad Ecuatoriana de Medicina Crítica.
- Reconocimiento Académico por ser un activo “PROMOTOR DE LA INVESTIGACIÓN CIENTIFICA” por la Sociedad Hispana de Investigadores Científicos.

MARIO PATRICIO MONTALVO VILLAGÓMEZ



- ORCID: 0000-0003-2987-7095
- Con 12 años de experiencia en mi especialidad, he desarrollado mis potencialidades en diagnóstico, tratamiento y manejo del paciente crítico en todas sus etapas. He concluido una maestría en Epidemiología y Salud Colectiva, lo que me ha permitido incursionar en el campo de la investigación, y de la Salud Pública.
- Especialidad en medicina crítica y cuidados intensivos cuarto nivel. Universidad Central del Ecuador.
- Maestría en epidemiología y salud colectiva. Universidad Andina Simón Bolívar.
- Doctor medicina general y cirugía, Tercer nivel Universidad Central del Ecuador 2017/03/01 - actual.
- Profesor / Universidad Central del Ecuador, docente para el Instituto Superior de Postgrado, Postgrado de emergencias y desastres. 2015/05/04 - actual.

- Medico intensivista / unidad de cuidados intensivos Hospital Pablo Arturo Suarez.

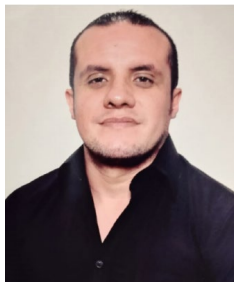
FERNANDO ESTEBAN JARA GONZÁLEZ

- ORCID: 0000-0003-2132-7187
- Fernando Jara González, es un médico, que, realiza su actividad médica durante 12 años en unidades de cuidado intensivo, los tres últimos años se desempeña como médico tratante del Hospital Oncológico Solón Espinoza Ayala (SOLCA) de la ciudad de Quito, en donde adquirió destrezas en el manejo de pacientes con emergencias oncológicas, y en estado crítico; durante los dos últimos años, se desempeña, además como médico tratante del Hospital Pablo Arturo Suarez, del Ministerio de Salud Pública del Ecuador, con habilidades en el manejo de pacientes críticos, clínicos y quirúrgicos. Sus objetivos profesionales se han orientado al enfoque de la hemodinamia, la asistencia respiratoria mecánica, y los trastornos metabólicos: Coordina actualmente la formación médica en ultrasonografía con el grupo WINFOCUS. Las aspiraciones futuras de Fernando Jara, están relacionadas con la investigación científica, la docencia, el

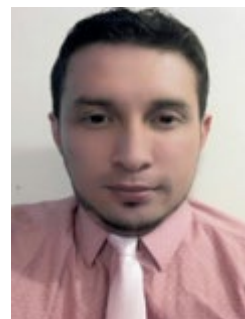
liderazgo de grupos y la administracion de unidades de servicio de salud.

SANTIAGO XAVIER AGUAYO MOSCOSO

- ORCID: 0000-0003-4919-5497
- Su formación la realiza en la ciudad de Quito, cursando el pregrado en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y posteriormente el posgrado de Medicina Crítica en la Universidad San Francisco de Quito. Su dedicación en el área de cuidados intensivos lo realiza desde hace 11 años en la cual ha desarrollado habilidades para el diagnóstico y manejo del enfermo crítico. Tiene interés en el ámbito de la sepsis, metabolismo y microcirculación. Desde el año 2014, ejerce el cargo de Médico Intensivista en el Hospital Pablo Arturo Suárez del Ministerio de Salud Pública del Ecuador.

PABLO ANDRÉS VÉLEZ PAEZ

- ORCID: 0000-0002-6392-3895
- Doctor en Medicina y Cirugía Universidad Central del Ecuador.
- Posgrado Medicina Crítica y Terapia Intensiva Universidad Central del Ecuador.
- Experiencia profesional por 4 años en varias unidades de cuidados críticos de la ciudad de Quito.
- Autor y coautor de varias publicaciones científicas en revistas indexadas nacionales.
- Capacitación en varios cursos en Metodología de la Investigación y redacción científica.

CARLOS GUSTAVO VELARDE MONTERO

- ORCID: 0000-0002-6530-1280
- Médico General de la República del Ecuador en la Universidad Central del Ecuador, ayudante de cátedra de patología durante un año, Dos años de residencia medica en área clínicas en el Hospital de Especialidades Médicas Hospital militar Quito N 1, al momento cursando segundo año del postgrado de Terapia Intensiva y Medicina Crítica en la Universidad Pontificia Católica del Ecuador, primer becado del ministerio de salud pública, últimos cursos de actualización medica continua, Formación en Bioestadística y Composición Científica.

OTRAS OBRAS DE LOS AUTORES



CIDE
Editorial

ISBN: 978-9942-792-37-2



9 789942 179237 2

