

Fisiopatologia endoteliale, glicosaminoglicani e glicocalice

Luca Masotti¹

Abstract

The endothelial glycocalyx can be described as a network of membrane-bound proteoglycans and glycoproteins, covering the luminal surface of endothelial cells. Over the past decades, structural properties and functions of glycocalyx have been increasingly examined, underlining its role in many physiological processes. This article provides the basis on composition and functions of the endothelial glycocalyx. The Author also describes the so called "endothelial dysfunction" and how it can lead to the development of pathological inflammatory processes and consequent vascular diseases.

Keywords: *glycocalyx, endothelial dysfunction, glucosaminoglycans, nitric oxide*
Endothelial pathophysiology, glycosaminoglycans and glycocalyx
CMI 2010; 4(Suppl. 4): 5-16

¹ Dirigente Medico
Medicina Interna,
Ospedale di Cecina,
Livorno,
Professore a Contratto,
Università di Siena

ENDOTELIO NORMALE E DISFUNZIONE ENDOTELIALE

L'endotelio costituisce una sottile lamina cellulare a diretto contatto con il lume vasale e quindi con il flusso sanguigno, rappresentando lo strato più interno e superficiale della parete vasale. Dal considerarlo una struttura inerte, come avveniva nel passato, si è progressivamente arrivati alla dimostrazione che l'endotelio rappresenta a tutti gli effetti un complesso organo endocrino. L'endotelio infatti, in condizioni normali, è fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi vascolare in risposta a stimoli fisiologici e patologici. La dimostrazione della secrezione, da parte delle cellule endoteliali, di sostanze mediatrici della motilità vasale e dei processi coagulativo e infiammatorio ha portato alla scoperta delle proprietà endocrine dell'endotelio [Bonetti, 2003].

Se considerato globalmente, l'endotelio è un organo dal peso di 1 kg, costituito da $1-6 \times 10^{13}$ cellule ed esteso per un'area di $1-7 \text{ m}^2$ [Bonetti, 2003; Blann, 2003/2004].

- Ripristino tono vasale
- Effetti anti-ossidanti
- Effetti anti-infiammatori
- Inibizione dell'adesione e della migrazione leucocitaria
- Inibizione della proliferazione e migrazione delle cellule muscolari lisce
- Inibizione dell'aggregazione e dell'adesione piastrinica
- Effetti anticoagulanti
- Effetti profibrinolitici

In condizioni fisiologiche l'endotelio offre al sangue una superficie anti-coagulante e anti-aggregante piastrinica, regola i movimenti di fluidi dal lume vasale ai tessuti e modula il tono vasale. Quest'ultimo è regolato dall'azione di sostanze vasodilatatrici (in particolare ossido nitrico, NO, e prostaciclina, PGI₂) e sostanze vasocostrittrici, *in primis* l'endotelina (ET1) [Bonetti, 2003; Blann, 2003/2004]. La Tabella I mostra le funzioni e le proprietà dell'endotelio. La Tabella II riassume le sostanze prodotte dalle cellule endoteliali.

In risposta a stimoli infiammatori la cellula endoteliale incrementa transitoriamente

Tabella I

Effetti favorevoli e protettivi dell'endotelio
[Bonetti, 2003]

Disclosure

Il presente supplemento è stato realizzato grazie al contributo di Alfa Wasserman

Anticoagulanti/ antitrombotiche	Trombomodulina, eparina, proteina C, proteina S, attivatore tissutale del plasminogeno, ossido nitrico, prostaciclina
Procoagulanti/ protrombotiche	Fattore di Von Willebrand, fattore V, inibitore dell'attivatore del plasminogeno, trombossano, fattore tissutale
Immunologiche	E-selectina, molecole di adesione intercellulare (ICAM), molecole di adesione cellule vascolari (VCAM), interleuchine 1, 6 e 18, fattore di necrosi tumorale (TNF), fattore chemiotattico per i monociti-1

Tabella II
Sostanze prodotte dalle cellule endoteliali [Blann, 2003/2004]

l'espressione di molecole di adesione, quali l'E-selectina, ICAM (molecole di adesione intercellulare) e VCAM (molecole di adesione vascolare), che inducono la migrazione transendoteliale di leucociti (monociti circolanti e macrofagi tissutali) [Bonetti, 2003; Blann, 2003/2004].

Ne consegue che l'alterazione della funzionalità endoteliale, in altri termini la **disfunzione endoteliale**, rappresenta un punto fondamentale per la conoscenza e lo studio dei processi patologici che conducono alla trombosi vasale, marker sia della patologia aterosclerotica sia della patologia cronica venosa. La disfunzione endoteliale conduce a incremento dell'adesione leucocitaria, edema, trombosi e ipertensione per aumento del tono vasale (Figura 1) [Bonetti, 2003].

La disfunzione endoteliale, potenzialmente reversibile, deriva dall'interazione dei tradizionali fattori di rischio vascolari (diabete mellito, ipertensione arteriosa, dislipidemia, obesità, fumo di sigaretta) con fattori locali e genetici; essa si caratterizza in ultima analisi per alterazioni della vasomotilità e sbilanciamento verso condizioni protrombotiche e proinfiammatorie, rappresentando il *primum movens* del processo aterosclerotico [Bonetti, 2003]. Allo stesso tempo, è ormai

riconosciuto che la disfunzione endoteliale è implicata anche nella patologia cronica venosa [Nicolaidis, 2005], rappresentando perciò di fatto il comune denominatore tra le patologie di origine arteriosa e venosa.

Numerose evidenze suggeriscono che l'adesione dei leucociti all'endotelio vasale e la loro migrazione nello spazio interstiziale costituiscano i principali meccanismi coinvolti nella disfunzione endoteliale arteriosa e nell'incompetenza venosa valvolare. L'"imprigionamento" e la diapedesi dei leucociti indotte da stimoli infiammatori si sviluppano attraverso la migrazione radiale delle cellule, il loro scorrimento a contatto con l'endotelio mediato da selectine e la loro adesione endoteliale mediata da integrine [Nicolaidis, 2005].

Citochine proinfiammatorie, radicali liberi dell'ossigeno, fattori di attivazione delle piastrine, aumento di ioni calcio intracellulari in condizioni ischemiche o altre sostanze tossiche alterano la funzione dei filamenti di actina associati alle giunzioni intercellulari aumentandone la permeabilità [Esper, 2006] (Figura 2).

L'accumulo nel tessuto di monociti e linfociti T costituisce lo stadio cruciale dell'instaurarsi del processo infiammatorio cronico. L'adenosina e la guanosina monofosfata cicliche (AMPc e GMPc), così come i nitrati, contrastano l'aumento di permeabilità mentre la protein-chinasi C stimola l'effetto opposto [Esper, 2006].

Altre strutture cellulari contrattili coinvolte nel mantenimento dell'equilibrio emoreologico sono le *stress fibers* costituite da filamenti filiformi composti da actina e miosina; la loro funzione principale è quella di adattare in base al flusso ematico la forma

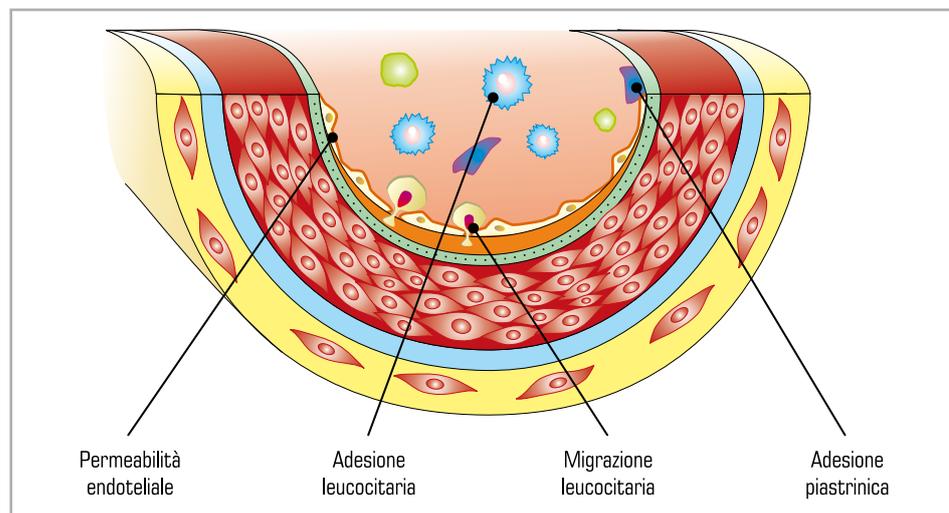


Figura 1
Principali manifestazioni fisiopatologiche nella disfunzione endoteliale

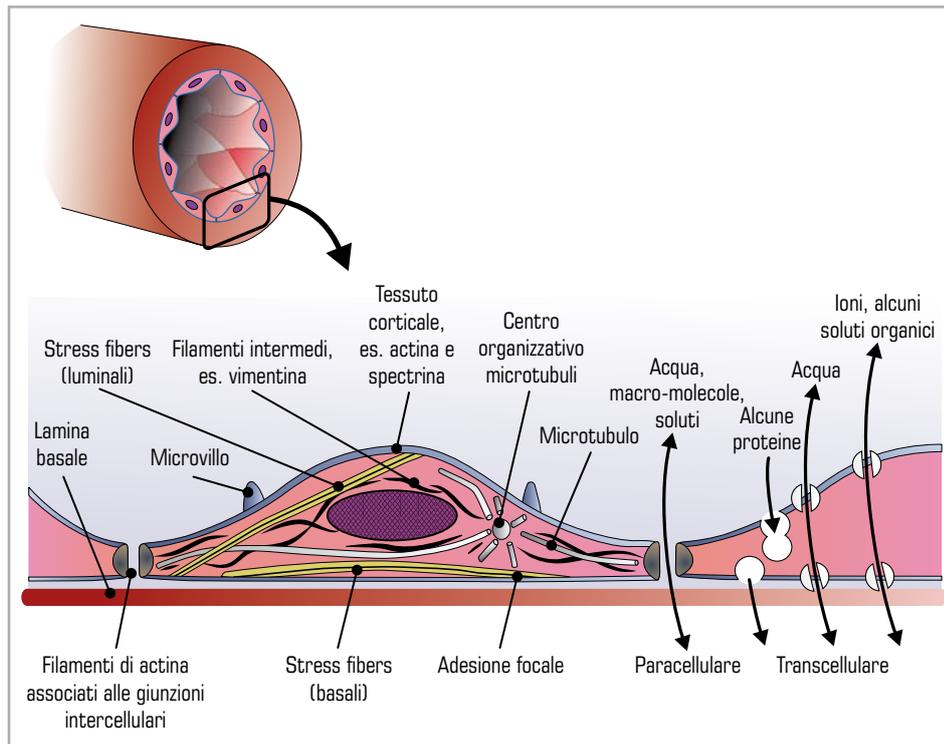


Figura 2
 Organizzazione del citoscheletro nelle cellule vascolari endoteliali.
 Modificata da [Esper, 2006]

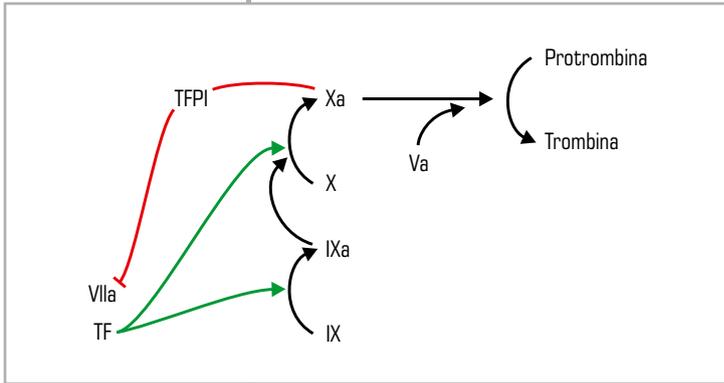
della cellula circolante o la distensione della parete per quanto riguarda le cellule endoteliali. Le variazioni morfologiche acquistano particolare importanza a livello dei capillari, dove il diametro del lume è inferiore a quello delle cellule circolanti, le quali riescono però ugualmente a passare grazie alla flessibilità dei due tipi di cellule (circolanti ed endoteliali) e alla repulsione reciproca data dal fatto che entrambi i tipi di cellule sono carichi negativamente [Esper, 2006].

I **mediatori flogistici** influenzano la cascata coagulativa aumentando l'espressione da parte delle cellule endoteliali di molecole come il fattore tissutale o tromboplastina, il fattore di Von Willebrand e i fattori inibitori l'attivazione del plasminogeno (PAI-1 e PAI-2). Ad esempio l'interleuchina-6 aumenta la concentrazione plasmatica di proteina C reattiva (PCR) ma anche la concentrazione di fibrinogeno e di PAI-1. A sua volta la PCR amplifica la risposta immunologica inducendo l'adesione leucocitaria e la produzione di fattori di crescita dei monociti. Il ligando per il CD40, legandosi al proprio recettore posizionato sui leucociti, può indurre l'espressione del fattore tissutale [Esper, 2006].

Il **fattore tissutale (TF)** ha un ruolo attivo nel dare inizio alla cascata coagulativa, principalmente attraverso la formazione di un complesso con il fattore della coagulazione VII, che, una volta attivato (VIIa), è in grado

di attivare il fattore IX, il quale a sua volta attiva il fattore X. Il fattore X attivato (Xa) catalizza, insieme al fattore V attivato (Va) e ioni calcio, la conversione da protrombina a trombina (fattore II) che induce a sua volta la formazione di fibrina a partire dal fibrinogeno [Steffel, 2006; Esper, 2006] (Figura 3). Oltre a questo ruolo il TF è coinvolto nella migrazione e nella proliferazione delle cellule muscolari lisce dei vasi, incrementandole. Il TF è espresso in modo costitutivo nelle cellule sub-endoteliali dei vasi, come le cellule muscolari lisce, ed è quindi promotore del rapido inizio del processo coagulativo quando a causa di un danno endoteliale esse entrano in contatto con le cellule ematiche. Il livello di concentrazione di TF trovato nello strato sub-endoteliale dei vasi è solitamente molto basso; alcuni mediatori come il fattore di necrosi tumorale alfa (TNF-alfa), il ligando del CD40, l'istamina, la trombina, l'endotossina e il fattore di crescita derivante dalle piastrine di tipo BB (PDGF-BB) ne stimolano l'espressione aumentandone la concentrazione.

Le cellule endoteliali, così come i monociti e i macrofagi, in condizioni fisiologiche hanno un'espressione del TF prossima allo zero. L'espressione di questo fattore può tuttavia essere indotta, in queste cellule, dal fattore alfa di necrosi tumorale (TNF-alfa), dall'interleuchina-1, dal fattore beta di necrosi tumorale (TNF-beta), dal ligando del



CD40, dalla serotonina, dall'istamina, dalla trombina, da lipoproteine a bassa densità (LDL) ossidate o dal fattore di crescita vascolare endoteliale. Anche l'espressione da parte di monociti e macrofagi è inducibile attraverso stimoli e mediatori dell'infiammazione come la PCR, il ligando del CD40, il PDGF-BB, l'angiotensina II e le LDL ossidate [Steffel, 2006].

La presenza di TF è stata rilevata anche nel flusso sanguigno (TF circolante), dove si trova solitamente associato a microparticelle

Figura 3

Attivazione della coagulazione indotta dal fattore tissutale (TF) (via estrinseca). La formazione di un complesso con il fattore VIIa porta all'attivazione del fattore IX e X, risultante nella generazione di trombina e, in ultimo, alla formazione del coagulo. Gli inibitori endogeni dell'attività fattore tissutale (TFPI), secreti dalle cellule endoteliali, si legano al fattore Xa inibendo in tal modo l'attività di TF e fattore VIIa. Modificata da [Steffel, 2006]

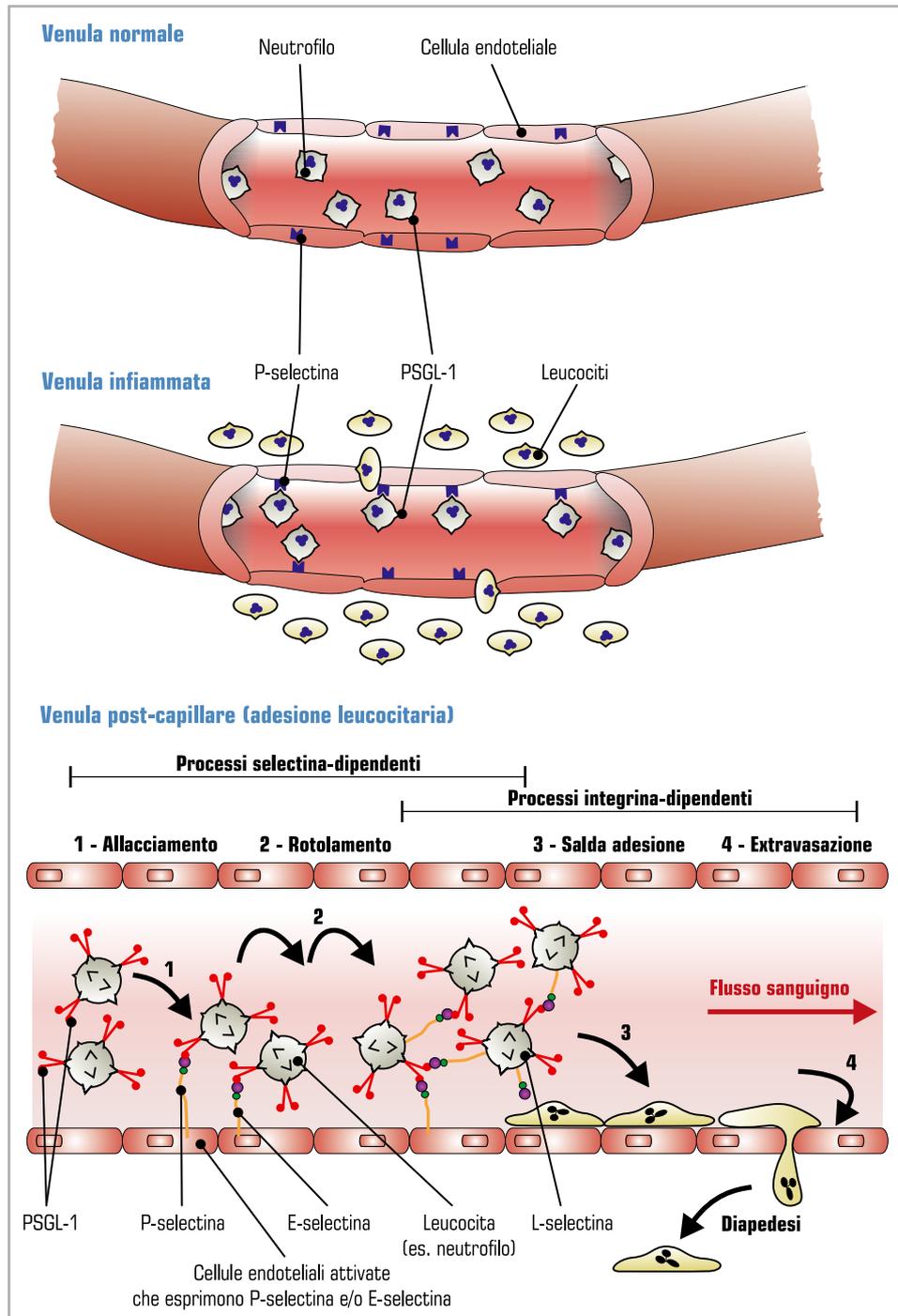


Figura 4

Integrine e selectine quiescenti e attivate: ruolo nella diapedesi
PSGL-1 = Ligando della glicoproteina P-selectina-1

originare da cellule endoteliali. Recentemente è stato isolato un tipo di TF che sembra rappresentare una forma distinta di TF circolante, non legato a microparticelle e dotato di attività pro-coagulante; esso sembra avere un ruolo determinante nella propagazione della trombosi [Steffel, 2006].

Il TF è coinvolto nello sviluppo di numerosi disturbi cardiovascolari. L'antigene plasmatico di questo fattore è risultato a più alta concentrazione in soggetti con ipertensione rispetto ai normotesi. L'angiotensina II induce l'espressione di TF in monociti, cellule endoteliali e cellule muscolari lisce

attraverso i recettori I; per tale ragione gli ACE inibitori e gli antagonisti dei recettori I dell'angiotensina II (cosiddetti sartani) sono in grado di ridurre l'attività plasmatica del TF. L'espressione del TF sembra aumentare anche in caso di alta concentrazione di glucosio e quindi di diabete mellito; è stato infatti dimostrato che il miglioramento del controllo glicemico comporta un abbassamento del livello di tale fattore. Nei soggetti obesi non diabetici l'insulina sembra ridurre sia l'espressione del TF da parte dei monociti, sia il livello di TF plasmatico. Le stesse considerazioni sono valide per i soggetti con

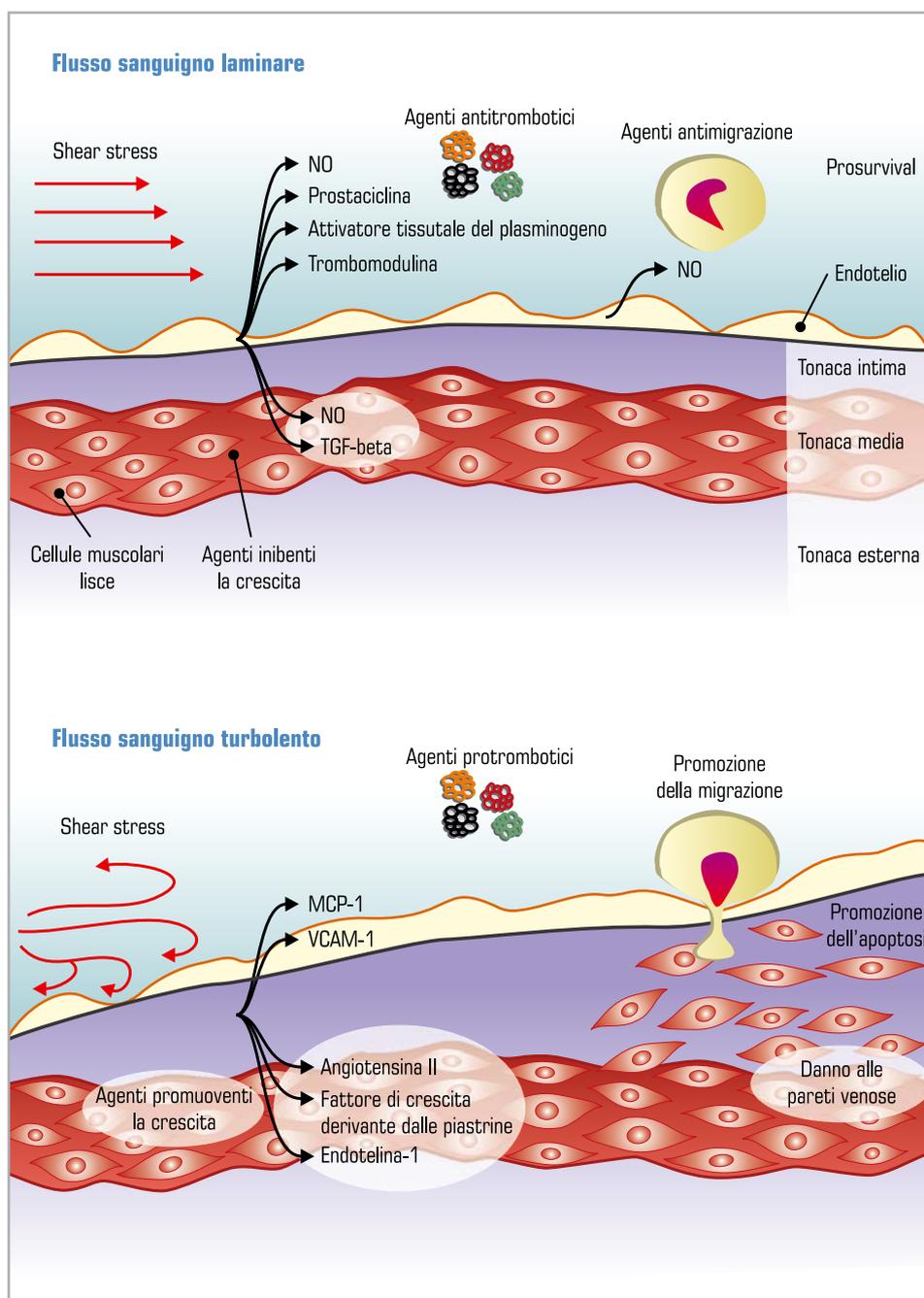


Figura 5
Relazione tra rilascio di NO e shear stress. In condizioni normali l'azione dello shear stress sull'endotelio provoca la secrezione di NO, mentre, a flusso alterato, vengono rilasciate molecole vasoconstrictrici. Modificata da [Bergan, 2006]

elevato livello di colesterolo-LDL; farmaci ipolipemizzanti (statine e fibrati) e GAGs (es. sulodexide) sembrano ridurre la produzione di TF. Inoltre, il fumo di sigaretta aumenta l'espressione di TF nelle placche aterosclerotiche. Questi e altri dati suggeriscono un ruolo centrale del TF nel determinare le condizioni di rischio per eventi cardiovascolari [Steffel, 2006].

Le **selectine** rilevate sull'endotelio vascolare sono la E-selectina e la P-selectina, entrambe coinvolte nell'interazione fra leucociti ed endotelio. La P-selectina è prodotta in modo costitutivo dalle cellule endoteliali, successivamente immagazzinata e secreta per escitosi indotta dalla presenza di trombina o di istamina. La E-selectina viene invece sintetizzata *ex-novo* in seguito a stimoli derivanti da citochine come l'interleuchina-1 o il fattore alfa di necrosi tumorale [Esper, 2006] (Figura 4).

Le **integrine** sono costitutivamente legate alla membrana delle cellule endoteliali, così come ai leucociti e alle piastrine, costituendo importanti mediatori delle interazioni fra queste cellule e l'endotelio (Figura 4).

Infine fra le molecole appartenenti alla superfamiglia delle immunoglobuline, quelle maggiormente conosciute sono le molecole di adesione intercellulare di tipo 1 e 2 (ICAM-1 e -2), le molecole di adesione delle cellule vascolari di tipo 1 (VCAM-1) e le molecole di adesione piastrine/celle endoteliali di tipo 1 (PECAM-1) che agiscono come ligando per le integrine costituendo un mediatore cruciale per la migrazione e

la diapedesi dei componenti immunologici [Esper, 2006].

Quasi tutti gli stimoli che producono vasodilatazione agiscono attraverso l'**ossido nitrico (NO)**. Questo gas volatile e lipofilo diffonde attraverso la tonaca intima e raggiunge il tessuto muscolare liscio delle arterie, dove induce il rilassamento delle cellule muscolari [Blann, 2003/2004].

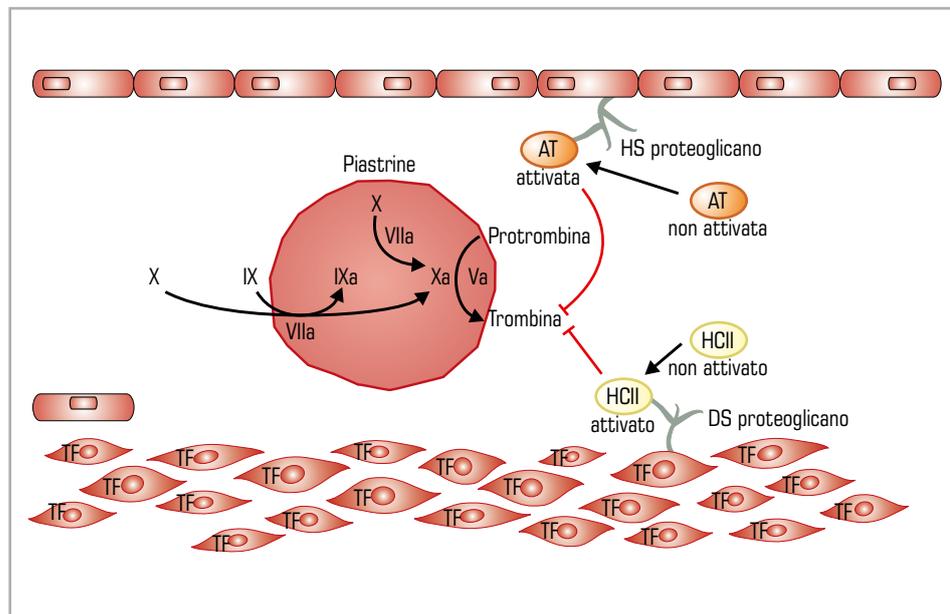
L'ossido nitrico è prodotto a livello delle cellule endoteliali attraverso la NO-sintetasi, enzima costituito da due domini separati: una ossigenasi e una reduttasi. Il meccanismo di regolazione della produzione di NO è molto complesso; l'attivazione dell'enzima endoteliale dipende infatti dall'interazione tra calcio e calmodulina. Anche acetilcolina (Ach), bradichinine e altri mediatori hanno un ruolo nella stimolazione della sintesi di NO. Vi sono poi casi specifici in cui la ridotta disponibilità di substrato o di co-fattore per la reazione di ossidazione induce la formazione di un potente ossidante (O_2^-) non accoppiata alla produzione di NO; questa condizione, denominata *NOS uncoupling* e in cui vi è un'alta produzione di radicali liberi dell'ossigeno e una ridotta sintesi di NO, costituisce il presupposto fondamentale della maggior parte delle patologie dell'apparato cardiovascolare [Pepine, 1998], contribuendo alla formazione della placca aterosclerotica e rendendola instabile.

NO regola, oltre alla vasodilatazione, molte altre funzioni delle cellule endoteliali fra cui l'inibizione dell'adesione e dell'aggregazione piastrinica, dell'adesione dei monociti

Figura 6

Attivazione di antitrombina e cofattore eparinico II da parte dei GAGs. Modificata da [Tollefsen, 2007]. L'antitrombina (AT) inibisce i fattori della coagulazione IXa, Xa, e la trombina quando si lega all'eparan solfato sulla superficie delle cellule endoteliali. Nelle condizioni di insulto endoteliale, il cofattore eparinico II (HCII) viene attivato dal dermatan solfato e inibisce la trombina

DS = dermatan solfato;
GAGs = glicosaminoglicani;
HS = eparan solfato;
TF = fattore tissutale



all'endotelio, dell'ossidazione tissutale, dei processi infiammatori, dell'attivazione di fattori trombotici e della proliferazione e migrazione cellulare [Esper, 2006; Blann, 2003/2004; Bonetti, 2003].

Il maggior stimolo al rilascio di NO deriva dall'aumento dello stress d'attrito sulla parete endoteliale (*shear stress*), proporzionale a sua volta alla velocità ematica e quindi, in ultima analisi, alla pressione sanguigna [Esper, 2006; Blann, 2003/2004; Bonetti, 2003] (Figura 5). La minore disponibilità di ossido nitrico, presumibilmente ascrivibile proprio al danneggiamento del glicosaminoglicano (GAG) endoteliale, è stata osservata fin dalle prime fasi del processo aterosclerotico [Bonetti, 2003].

Il **cofattore eparinico II (HCII)** rappresenta un anticoagulante naturale che agisce direttamente inibendo la formazione di trombina (Figura 6). È stato ipotizzato che

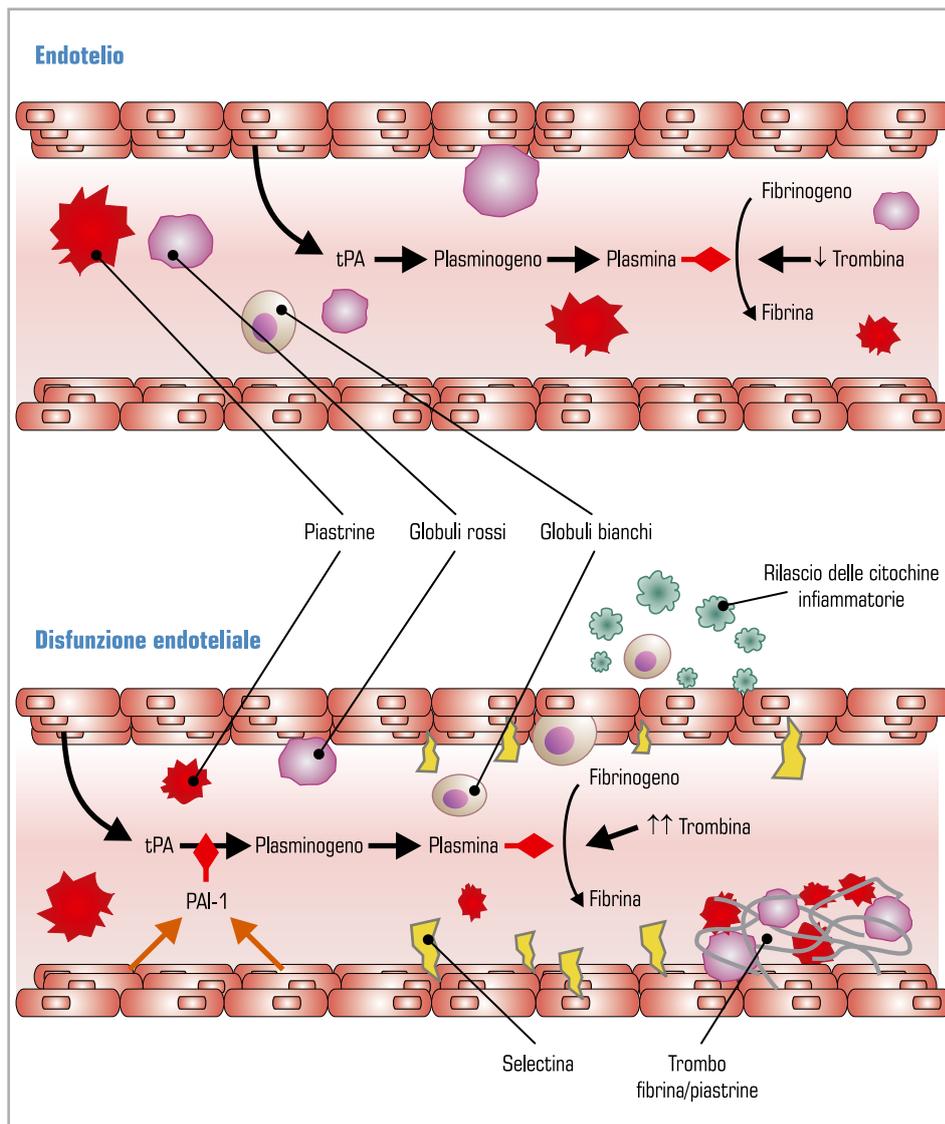
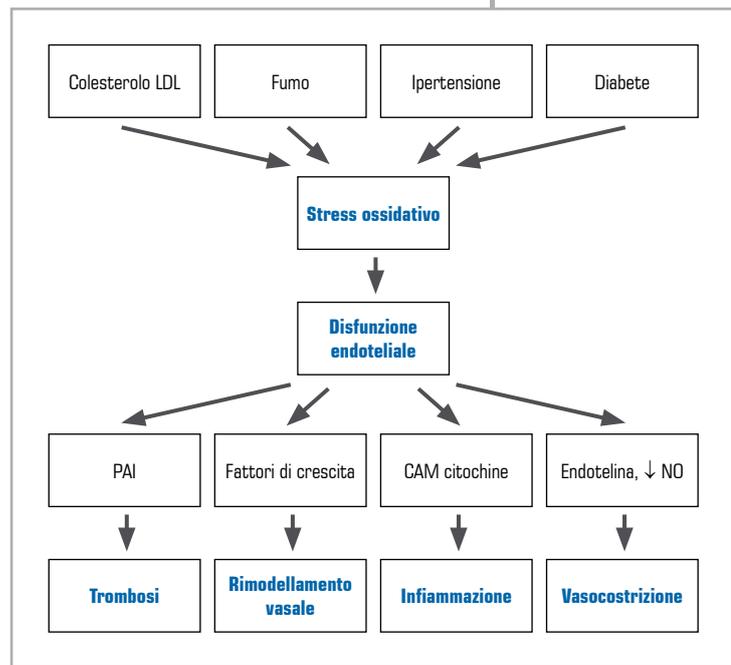


Figura 7
Azione dei fattori di rischio vascolare sull'endotelio. Modificata da [Bonetti, 2003]

CAM = molecole di adesione cellulare;
PAI = inibitore dell'attivazione del plasminogeno

Figura 8
Ruolo dell'endotelio nel bilanciare trombosi e fibrinolisi. Modificata da [Bunte, 2008]

Figura 9

Endotelio normale (sinistra) e disfunzione endoteliale (destra) [Viles Gonzalez, 2004]. L'endotelio controlla l'omeostasi vascolare regolando il tono vascolare, la trombogenicità, la funzione piastrinica, la proliferazione e la migrazione delle cellule muscolari lisce (SMC) e la vasomotilità. Condizioni di normale funzione endoteliale sono mantenute dal bilancio di produzione di ossido nitrico (NO) ad azione vasodilatatrice ed endotelina (ET-1) ad azione vasocostrittrice impedendo l'eccessiva aggregazione piastrinica mediante la produzione di NO e prostaciclina (PGI₂) e bilanciando la coagulazione mediante la produzione di fibrina (inibitore della via di TF/TF) e la fibrinolisi (attivatore del plasminogeno tissutale [tPA]/inibitore dell'attivatore del plasminogeno-1 [PAI-1]). La disfunzione endoteliale favorisce l'adesione di macrofagi e la migrazione di monociti (proteina chemotattica monocitaria-1 [MCP-1]), la crescita della placca aterosclerotica e la vasocostrizione

FDP = prodotto di degradazione della fibrina;
MMP = metalloproteinasi della matrice;
TxA₂ = trombossano A2;
VEGF = fattore di crescita vascolare endoteliale

la disfunzione endoteliale si associa a una carenza di HCII con uno sbilanciamento in senso pro-trombinico e quindi protrombotico [Tollefsen, 2007].

I classici fattori di rischio cardiovascolari (ipercolesterolemia, ipertensione, fumo, iperglicemia, vita sedentaria, ecc.) hanno come fattore comune quello di indurre lo sviluppo di stress ossidativo (Figura 7). Infatti, mentre in condizioni fisiologiche la produzione di sostanze ossidanti altamente reattive come l'anione superossido, il perossido d'idrogeno o il radicale idrossilico è controbilanciata da un efficiente sistema antiossidante, in stati patologici queste sostanze iper-reattive sono presenti in eccesso. Tale situazione, identificata appunto con l'espressione stress ossidativo, stimola in maniera diretta o attraverso mediatori secondari la replicazione del fattore nucleare kappa B (NF-kB) che induce la produzione di citochine come TNF-alfa e interleuchine IL-1 e IL-6 in grado di inibire la sintesi di NO e di favorire quella di angiotensina II, principale antagonista di NO, che causa vasocostrizione, adesione leucocitaria ed effetti protrombotici e antifibrinolitici [Esper, 2006; Bonetti, 2003].

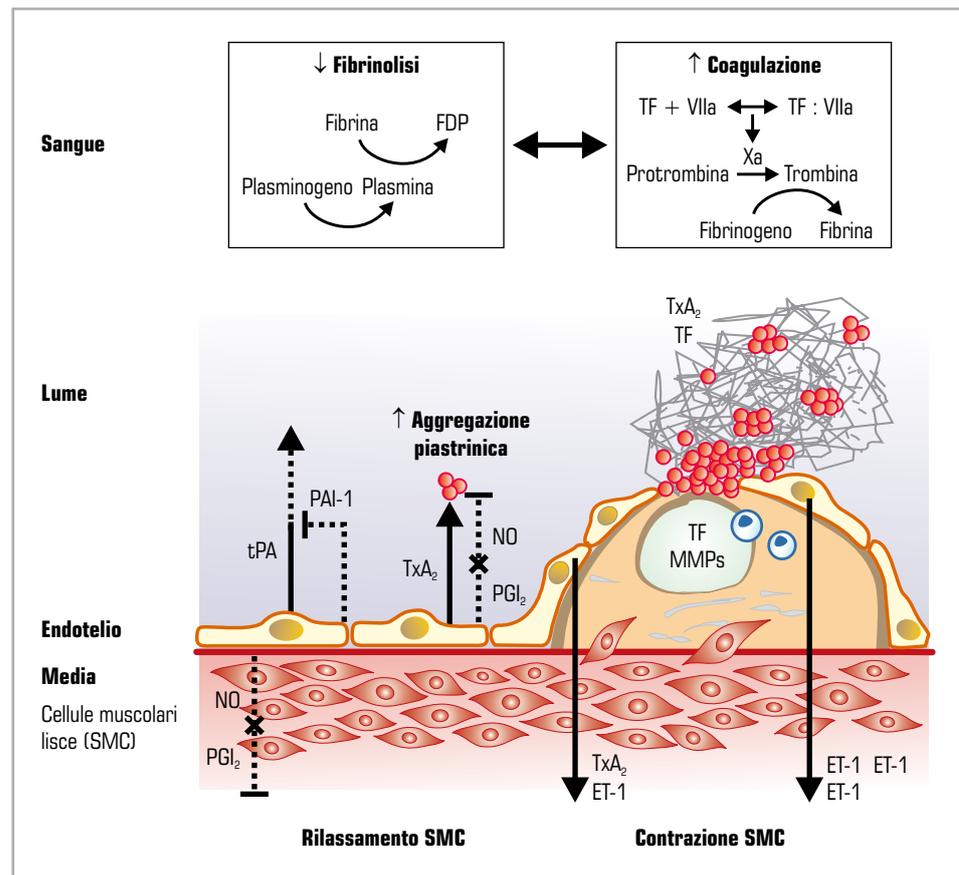
Le **particelle c-LDL** in condizioni di stress ossidativo sono facilmente ossidate

divenendo così altamente immunogeniche. Esse attaccano la tonaca intima delle arterie e inducono la produzione di molecole di adesione endoteliale e di attrazione monocitaria, l'aggregazione piastrinica, l'espressione di metalloproteinasi e la trombogenesi. L'accumulo di LDL ossidate induce la trasformazione dei macrofagi in *foam cells* (cellule schiumose), principali componenti dell'ateroma [Esper, 2006; Bonetti, 2003].

Le Figure 8 e 9 evidenziano schematicamente la risposta endoteliale a stimoli infiammatori e i processi infiammatorio e trombotico che si instaurano nella disfunzione endoteliale.

GLICOCALICE, GLICOSAMINOGLICANI E DISFUNZIONE ENDOTELIALE

Il glicocalice endoteliale è un sottile strato di rivestimento del lume vasale che ricopre le cellule endoteliali, spesso 0,5-3 µm. È connesso con l'endotelio attraverso proteoglicani e glicoproteine dette molecole *backbone* che costituiscono un sistema reticolato in cui sono intrappolate molecole, o frammenti di



esse, derivanti dal plasma o dall'endotelio [Nieuwdorp, 2005].

Il glicocalice è composto da proteoglicani, glicosamminoglicani (GAGs) e glicoproteine derivanti da plasma o da cellule endoteliali. I GAGs sono rappresentati da dermatan solfato (DS), eparan solfato (HS), condroitin solfato, keratan solfato e acido ialuronico [Prydz, 2000]. Si tratta di polimeri lineari di disaccaridi con grado di solfatazione variabile, responsabile della loro carica negativa. A livello del glicocalice endoteliale i GAGs maggiormente rappresentati sono DS e HS, quest'ultimo rappresentando il 50-90% [Nieuwdorp, 2005; Reitsma, 2007]. I proteoglicani sono costituiti da un cuore proteico al quale sono legate una o più catene di GAGs. Le glicoproteine endoteliali, molecole relativamente piccole (2-15 residui zuccherini) con catene laterali di carboidrati ramificati, che rivestono un ruolo predominante per la funzionalità del glicocalice, sono le molecole di adesione cellulare. Esse appartengono principalmente a tre famiglie: le selectine, le integrine e le immunoglobuline. Incorporati in questo strato di rivestimento vi sono vari tipi di proteine solubili che derivano dall'endotelio e dal flusso sanguigno come albumina e orosomucoide [Reitsma, 2007].

Il glicocalice che ricopre l'endotelio vascolare svolge un ruolo protettivo nei confronti di quest'ultimo e tale meccanismo protettivo sembra essere svolto appunto da proteoglicani e GAGs [Nieuwdorp, 2005; Reitsma, 2007].

Uno dei ruoli principali svolti dal glicocalice è quello di evitare l'extravasazione di colloidi e fluidi e di limitare l'accesso di determinate molecole/cellule all'endotelio vasale. Questa funzione viene svolta sia in

base alle dimensioni e all'ingombro sterico delle molecole sia in base alla loro carica elettrostatica; infatti il glicocalice ha una carica fortemente negativa e ciò è determinato dalla presenza dei GAGs.

L'influenza che il glicocalice ha sull'adesione dei leucociti all'endotelio si esplica attraverso due meccanismi: da una parte esso permette l'adesione attraverso molecole come la P-selectina o le ICAM-1 e dall'altra attenua il contatto fra queste cellule e quelle dell'endotelio [Mulivor, 2002].

Secondo ipotesi accreditate il glicocalice è implicato nel meccanismo d'azione che conduce alla vasodilatazione indotta da NO. Lo stress da attrito stimola infatti la sintesi di NO, che a sua volta permette la vasodilatazione. Le molecole responsabili della traduzione del segnale fisico, derivante dal flusso, in un segnale biochimico capace di indurre la produzione di NO non sono ancora state identificate. Recentemente però si sta diffondendo l'ipotesi che il glicocalice sia coinvolto in questo processo. Una delle prove che supportano tale ipotesi è un esperimento, condotto su arterie femorali di cane isolate, in cui il pre-trattamento enzimatico per degradare il glicosaminoglicano ha significativamente ridotto la produzione di NO rispetto ai casi in cui tale pre-trattamento non è stato effettuato [Mochizuki, 2003]. Inoltre vi è una serie di molecole e di enzimi la cui funzionalità dipende dall'interazione con il glicocalice. Il legame di queste molecole plasmatiche con esso può indurre delle modificazioni nell'ambiente circostante dovute all'aumento della concentrazione locale della sostanza legata o alla formazione di un gradiente di concentrazione nei pressi del sito di legame. In molti casi questi legami conferiscono al glicocalice un ruolo

Molecola	Funzione principale a livello vascolare
Antitrombina III	Potente inibitore di proteasi pro-coagulanti (trombina, fattore Xa); attività potenziata da eparine o eparan solfato
Cofattore eparinico II	Inibitore della trombina; attivato da dermatan solfato
TFPI (inibitore dell'attivazione della coagulazione indotta da TF)	Proteina anticoagulante che inibisce l'attivazione dei fattori VII e X
LPL (lipoproteinlipasi)	Enzima coinvolto nella lisi delle lipoproteine a bassa densità
LDL (lipoproteine a bassa densità)	Trasportatori circolanti di colesterolo e trigliceridi
VEGF (fattore di crescita vascolare endoteliale)	Potente stimolante dell'angiogenesi la cui produzione è indotta da stati di ipossia
FGFr (recettore per il fattore di crescita dei fibroblasti)	Recettore per fattore di crescita coinvolto nell'angiogenesi e nella proliferazione cellulare dell'endotelio

Tabella III

Principali molecole la cui azione dipende dall'interazione con il glicocalice. Modificata da [Reitsma, 2007]

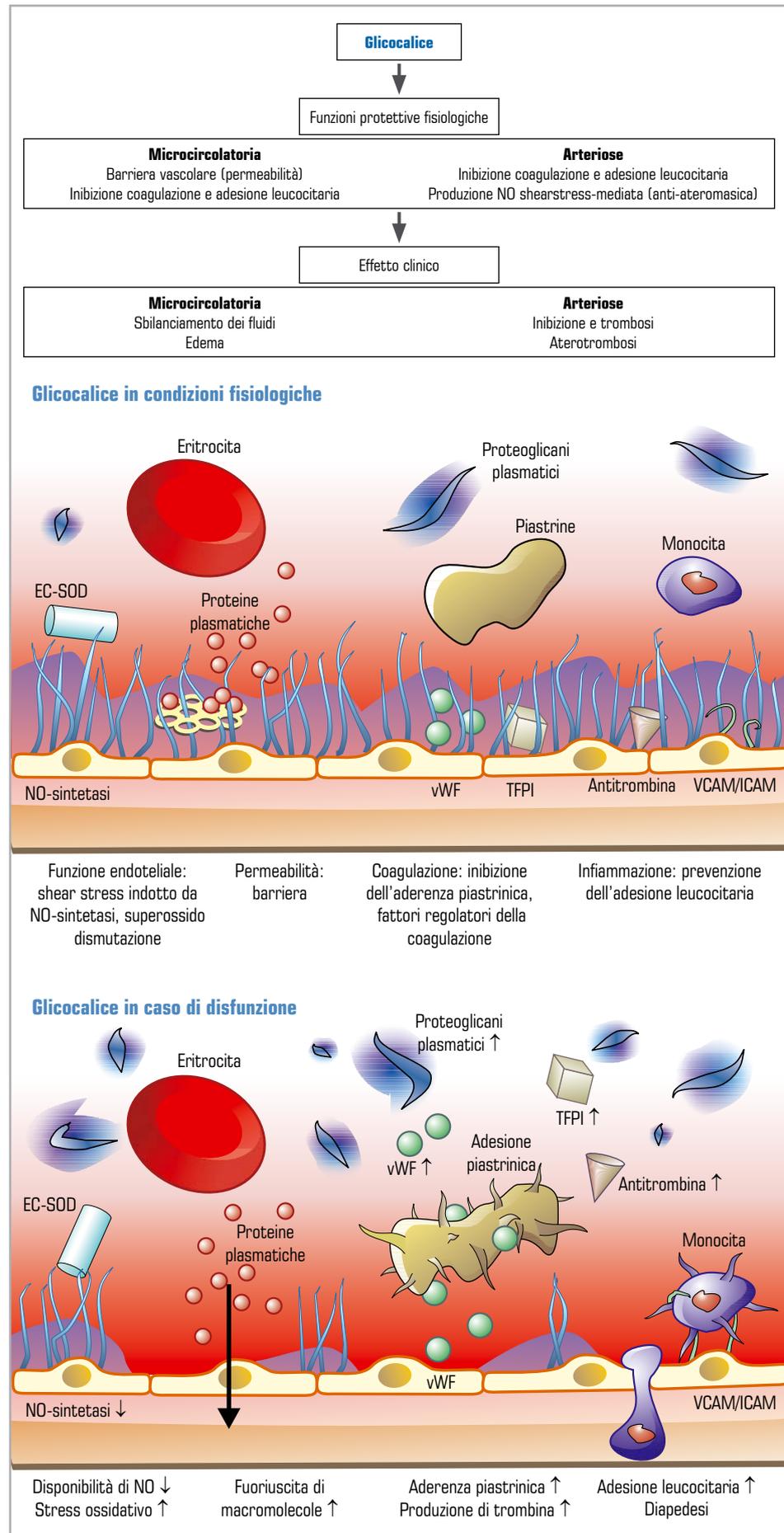


Figura 10
Funzioni protettive del glicocalice e conseguenze della disfunzione.
Modificata da [Nieuwdorp, 2005].

EC-SOD = superossido-dismutasi extracellulare;
ICAM = molecole di adesione intracellulare;
TFPI = inibitore della via del fattore tissutale; VCAM = molecole di adesione vascolare; vWF = fattore di von Willebrand

protettivo: ad esempio numerosi mediatori anticoagulanti come l'antitrombina III e il cofattore eparinico II, l'inibitore della via estrinseca di attivazione della coagulazione o la trombomodulina si legano al glicocalice e contribuiscono ad evitare l'estensione patologica dell'emostasi. Inoltre il glicocalice endoteliale limita il contatto fra citochine pro-flogistiche e recettori cellulari, limitando la risposta immunologica [Reitsma, 2007]. In Tabella III sono riportate le principali molecole la cui azione è regolata dal legame con il glicocalice.

La correlazione fra patologie vascolari e glicocalice è sostenuta sia a livello del microcircolo che nel macrocircolo. In quest'ultimo ambito alcune evidenze confermano infatti la sua presenza e l'importanza del suo ruolo anche in vasi di grandi dimensioni. Ad esempio van Haaren e colleghi hanno rilevato uno spesso strato di glicocalice in grosse arterie di topo [van Haaren, 2003]. Altri studi hanno dimostrato che in vasi di grandi dimensioni questo insieme di sostanze limita l'infiltrazione di particelle LDL nello spazio subendoteliale [Adamson, 1990; Huxley, 2000]. Inoltre è stato dimostrato che la perdita di GAGs dal glicocalice endoteliale di vasi arteriosi è associato alla formazione di edema subendoteliale [Fry, 2002] e che in zone ad altro rischio aterogenico a causa dello *shear stress*, come biforcazioni o curvature dei vasi, lo spessore del glicocalice risultava molto inferiore a quello riscontrabile in altre zone

del vaso [Gouverneur, 2006a; Gouverneur, 2006b].

È stato osservato che un danno a livello del glicocalice comporta un aumento di superossidodismutasi extracellulare con conseguente sbilanciamento in favore di uno stato pro-ossidativo e, inevitabilmente, una maggiore vulnerabilità delle cellule endoteliali. Tali osservazioni evidenziano l'importanza rivestita da questa sostanza nello sviluppo delle prime fasi dell'aterogenesi e di altre patologie vascolari [Gouverneur, 2006; Chappell, 2009].

Fra questo strato di componenti solubili e parzialmente solubili e il flusso sanguigno esiste un equilibrio dinamico che influenza continuamente composizione e spessore del glicocalice. Inoltre il glicocalice può essere danneggiato o rimosso a causa di reazioni enzimatiche o stress da attrito. Considerato il ruolo protettivo del glicocalice e i numerosi siti di legame in esso contenuti, modificazioni anche lievi della sua composizione (ad es. del grado di solfatazione dei GAGs) possono avere importanti conseguenze funzionali. Alterazioni nella quantità e/o composizione di GAGs e/o proteoglicani possono determinare alterazioni della carica elettrica del glicocalice, aumento della permeabilità endoteliale, adesione di cellule infiammatorie e di molecole proinfiammatorie e protrombotiche. In ultima analisi l'alterazione qualitativa e/o quantitativa del glicocalice può indurre la disfunzione endoteliale (Figura 10).

BIBLIOGRAFIA

- Blann AD (2003/2004). Assessment of endothelial dysfunction: focus on atherothrombotic disease. *Pathophysiol Haemost Thromb*; 33: 256-61
- Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A (2003). Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 23: 168-75
- Bunte MC, Patnaik MM, Pritzker MR, Burns LJ (2008). Pulmonary veno-occlusive disease following hematopoietic stem cell transplantation: a rare model of endothelial dysfunction. *Bone Marrow Transplantation*; 41: 677-86
- Chappell D, Westphal M, Jacob M (2009). The impact of the glycocalyx on microcirculatory oxygen distribution in critical illness. *Curr Opin Anesthesiol*; 22: 155-62
- Esper RJ, Nordaby RA, Vilariño JO, Paragano A, Cacharrón JL, Machado RA (2006). Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol*; 5: 4
- Fry DL (2002). Arterial intimal-medial permeability and coevolving structural responses to defined shear-stress exposures. *Am J Physiol*; 283: H2341-55
- Gouverneur M, Spaan JA, Pannekoek H, Fontijn RD, Vink H (2006a). Fluid shear stress stimulates incorporation of hyaluronan into endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290: H458-62
- Gouverneur M, Van Den Berg B, Stroes E, Vink H (2006b). Vasculoprotective properties of the endothelial glycocalyx: effects of fluid shear stress. *J Intern Med*; 259: 393-400

- Huxley VH, Williams DA (2000). Role of a glycocalyx on coronary arteriole permeability to proteins: evidence from enzyme treatments. *Am J Physiol*; 278: H1177-85
- Mochizuki S, Vink H, Hiramatsu O, Kajita T, Shigeto F, Spaan JA et al (2003). Role of hyaluronic acid glycosaminoglycans in shear-induced endothelium-derived nitric oxide release. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 285: H722-6
- Mulivor AW, Lipowsky HH (2002). Role of glycocalyx in leukocyte-endothelial cell adhesion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 283: H1282-H1291
- Nicolaides AN (2005). Chronic venous disease and the leukocyte-endothelium interaction: from symptoms to ulceration. *Angiology*; 56: S11-S19
- Nieuwdorp M, Meuwese MC, Vink H, Hoekstra JB, Kastelein JJ, Stroes ES (2005). The endothelial glycocalyx: a potential barrier between health and vascular disease. *Curr Opin Lipidol*; 16: 507-11
- Pepine C (1998). Endothelial dysfunction and its role in the cycle of cardiovascular disease. *Can J Cardiol*; 14: 5D-7D
- Prydz K, Dalen KT (2000). Synthesis and sorting of proteoglycans. *J Cell Science*; 113: 193-205
- Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, van Zandvoort MA, oude Egbrink MG (2007). The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch*; 454: 345-59
- Tollefsen DM (2007). Heparan cofactor II modulates the response to vascular injury. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*; 27: 454-60
- Steffel J, Luscher TF, Tanner FC (2006). Tissue factor in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical implications. *Circulation*; 113: 722-31
- Van Haaren PM, van Bavel E, Vink H, Spaan JA (2003). Localization of the permeability barrier to solutes in isolated arteries by confocal microscopy. *Am J Physiol*; 285: H2848-56
- Viles-Gonzalez JF, Fuster V, Badimon JJ (2004). Atherosclerosis: a widespread disease with unpredictable and life-threatening consequences. *Eur Heart J*; 25: 1197-207