

文章编号: 1004-7220(2024)02-0368-07

衰老引发的糖萼损伤与血管功能障碍

张梓航, 高朵岚, 戴鑫源, 刘添, 李明翰, 邓小燕, 康红艳

(北京航空航天大学 生物与医学工程学院; 生物力学与力生物学教育部重点实验室; 北京市生物医学工程高精尖创新中心, 北京 100083)

摘要: 血管内皮糖萼 (endothelial glycocalyx, EG) 是位于血管内表面的一层多糖蛋白复合结构, 其损伤与动脉粥样硬化、中风、脓毒症、糖尿病、肾脏疾病、高血压、肺水肿等诸多疾病存在关联。基于此, 糖萼的健康程度已被列为评估血管健康的重要指标。研究表明, 衰老会伴随糖萼发生退行性改变, 体现在其厚度变薄、合成及降解相关酶基因水平的失调等方面。作为血管的天然保护性屏障, 衰老引发的糖萼损伤与血管舒缩功能受损、通透性增大、炎症及免疫反应失调、凝血/抗凝功能失衡等存在关联。从“结构决定功能”角度出发, 开展衰老过程中糖萼厚度、成分、微观结构、力学特性等变化规律及其与血管功能障碍的相关性研究, 对于预防、诊断、治疗动脉粥样硬化等年龄相关性心血管疾病具有重要意义。

关键词: 糖萼; 衰老; 血管功能障碍; 动脉粥样硬化

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2024.02.026

Aging-Induced Endothelial Glycocalyx Alteration and Vascular Dysfunction

ZHANG Zihang, GAO Duolan, DAI Xinyuan, LIU Tian, LI Minghan, DENG Xiaoyan,
KANG Hongyan

(School of Biological Science and Medical Engineering; Key Laboratory of Biomechanics and Mechanobiology, Ministry of Education; Beijing Advanced Innovation Center for Biomedical Engineering, Beihang University, Beijing 100083, China)

Abstract: The endothelial glycocalyx (EG) is a polyglycoprotein complex present on the internal vascular surface, and its impairment is associated with the progression of multiple diseases, including atherosclerosis, stroke, sepsis, diabetes, kidney disease, hypertension, and lung edema. Therefore, glycocalyx health can be used as a biomarker to evaluate vascular health. Aging leads to dysfunctional changes in the glycocalyx; for example, its thickness decreases, and the genes of enzymes involved in its synthesis and digestion are dysregulated. As a natural barrier to the vascular system, age-related glycocalyx disruption is associated with vascular dysfunction, including impairment of vascular contraction and dilation, enhancement of permeability, dysregulation of inflammatory and immune reactions, and imbalance of anticoagulation and thrombin. From the perspective of ‘structure determines function’ studies on the changing regularity of the thickness, components, microstructure, and mechanical properties of EG with aging and its relationship with vascular dysfunction are of great significance for the prevention, diagnosis, and treatment of atherosclerosis and other age-related cardiovascular diseases.

Key words: glycocalyx; aging; vascular dysfunction; atherosclerosis

收稿日期: 2023-07-25; 修回日期: 2023-08-30

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32271368, 32071311), 北京市自然科学基金项目 (7222308)

通信作者: 康红艳, 副教授, E-mail: hongyankang@buaa.edu.cn

来自联合国《2022年世界人口展望报告》(the World Population Prospects 2022)的一项数据表明,世界人口已从1950年的25亿人增至如今约80亿人,全球60岁及以上的人口数量已超过10亿。据估计,截至2050年,该年龄段(≥ 60 岁)的人口数量将超过20亿,占据当年全球总人口数的20%以上。其中,80岁以上的人口将达到4.5亿。人类寿命的延长固然是值得庆贺的事;然而,伴随着年龄的增长,各种与年龄相关的心脑血管疾病的发病率显著提升,人口老龄化在全球范围内的加剧无疑使得社会医疗系统面临新的挑战。

根据《2018年世界卫生组织心血管疾病报告》可知,全球每年有约1.7亿人死于各种原因,其中超过1/3的死亡是由心血管疾病所导致,因心血管疾病而死亡的老年人更是占据了老年人死亡总数的50%以上^[1]。血管功能障碍是心脑血管和神经退行性疾病的一个重要特征^[2]。血管结构和功能的复杂变化与衰老和老龄化疾病的发生和发展息息相关^[3]。血管内皮糖萼(endothelial glycocalyx, EG)是位于血管内皮表面的一层多糖蛋白复合结构,介于血管壁与循环血液之间,在力信号转导、抑制血细胞对内皮的黏附、调控血管壁的选择通透性等方面发挥了重要的功能,堪称血管内壁的天然“保护伞”。研究表明,糖萼损伤与动脉粥样硬化、中风、脓毒症、糖尿病、肾脏疾病、高血压、肺水肿等诸多

疾病存在关联^[4]。基于此,糖萼的健康程度和完整性已被列为评估血管健康的重要指标^[5]。

虽然目前的研究成果仍不能清晰判断在自然增龄过程中,糖萼的退行性改变和血管功能障碍的逻辑关系,但已有研究发现内皮糖萼的厚度在12月龄小鼠中下降,这种现象大概率先于传统年龄相关的血管功能障碍^[6],提示糖萼老化与血管功能障碍之间可能存在一定的关联。本文梳理了衰老引发糖萼退行性改变的研究现状,并重点针对糖萼退行性改变与血管功能障碍之间的可能关联展开论述(见图1)。

1 糖萼与血管功能的关系

EG排列在血管内皮细胞的顶膜面。从生化成分来看,EG由糖脂、血浆蛋白、糖蛋白及硫酸化的蛋白聚糖(proteoglycans, PG)组成。其中,PG的核心蛋白骨架包含跨膜多配体蛋白聚糖(syndecan)、GPI-锚定蛋白聚糖(glypican)、基底膜蛋白聚糖(perlecan);其连接的糖胺聚糖(glycosaminoglycans, GAG)侧链则由硫酸乙酰肝素(heparan sulfate, HS)、硫酸软骨素(chondroitin sulfate, CS)、非硫酸化GAG透明质酸(hyaluronic acid, HA)等组成。

糖萼具有多种功能,对于维持健康的脉管系统至关重要。完整的糖萼可对血流起到良好的缓冲作用,调节血管阻力以维持微循环中的血流均匀

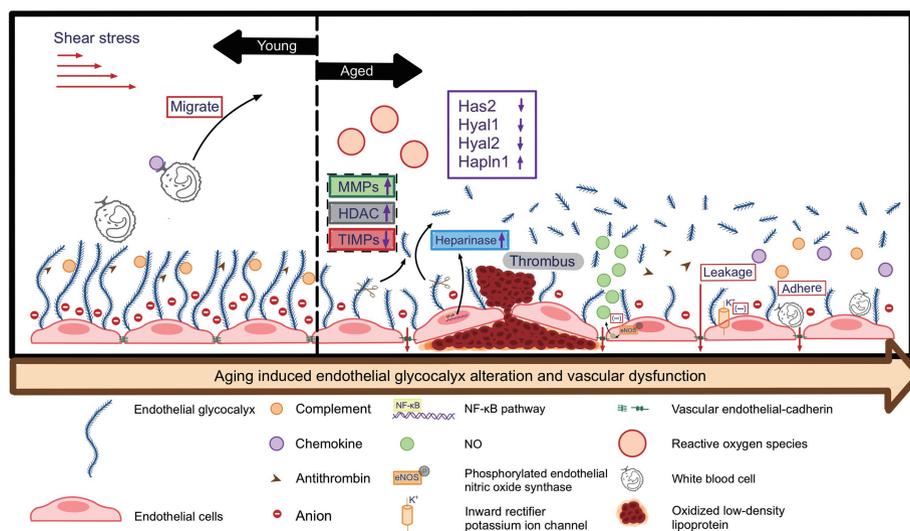


图1 衰老引发的糖萼损伤与血管功能障碍

Fig. 1 Aging-induced endothelial glycocalyx alteration and vascular dysfunction

性^[7],并且减弱毛细血管不规则对流动红细胞的影响^[8],从而降低红细胞在毛细血管中通过所需的驱动压力。此外,糖萼能调节微循环中血液表观黏度和红细胞压积。Prie等^[7]通过建立的大鼠肠系膜微血管网模型,发现在考虑糖萼的情况下,血液的表观黏度将比未考虑糖萼增大2倍,使得其与生理测量值更为接近。

1.1 力传导

EG可通过力传导介导内皮细胞NO的释放。在该力传导途径中,糖萼中的glypican-1通过其HS侧链对流动剪切力进行感知,并将其传递至内皮细胞表面^[9];血小板内皮细胞黏附分子-1(platelet endothelial cadherin molecular-1,PECAM-1)与HS结合作为流动剪切力的下游效应器,开启磷酸化级联反应^[10],使eNOS通过磷酸化产生NO并使其产量持续增加^[9]。NO通过与邻近的血管平滑肌细胞相互作用激活可溶性鸟苷酸环化酶(soluble guanylate cyclase,sGC),引起鸟苷三磷酸(guanosine-triphosphate,GTP)向循环鸟苷一磷酸(cyclical guanosine-monophosphate,cGMP)的转换,进而激活蛋白激酶G(protein kinase G,PKG)。在其作用下,细胞内钙水平下降,血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell,VSMC)松弛,最终引发血管舒张。

1.2 血管壁的选择性通透屏障

EG凭借其特殊的生理位置(介于循环血液与血管壁之间),在溶质向血管壁转运过程中,起到了天然屏障作用。糖萼对溶质分子的屏障作用首先体现在溶质分子的尺寸上。大量实验结果表明,糖萼对半径在2 nm以下的菊粉、右旋糖酐等分子几乎无限制作用,而半径4 nm以上的菊粉、右旋糖酐、白蛋白分子几乎不能通过内皮细胞糖萼^[11]。更进一步研究发现,内皮细胞表面的糖萼主要承担了较大尺寸的溶质分子屏障作用,内皮细胞间的紧密连接带则承担了较小尺寸溶质分子的屏障作用^[12]。同时,糖萼对溶质分子的屏障作用还体现在溶质的电荷方面。大量的实验现象表明,相同尺寸不同电荷的溶质分子,糖萼对阴离子溶质分子的屏障作用更强^[13]。

除溶质外,糖萼也是血细胞跨细胞迁移的重要屏障。在心肌梗死、中风和外周血管疾病发病过程中,活化的中性粒细胞可释放中性粒细胞细胞外陷

阱(neutrophil extracellular traps,NETs),这种网状结构的物质形成后,进一步诱发基质金属蛋白酶(metalloproteinases,MMPs)和髓过氧化物酶(myeloperoxidase,MPO)的释放,加剧糖萼组分的脱落以及血管内皮钙黏蛋白(vascular endothelial-cadherin,VE-cadherin)的降解,导致血管渗漏增加^[14]。另外,此过程还伴随细胞外组蛋白的释放,该组蛋白对EC具有高细胞毒性,并与EG相互作用,进而加剧微血管渗漏和屏障功能障碍^[15]。

此外,糖萼还可通过与内皮细胞间的连接结构协调作用,调控血管通透性。有研究表明,从内皮糖萼层去除HS会使间隙连接蛋白43(gap junction protein,GJP43)的表达量减少30%,导致血管通透性增加^[16]。

1.3 调节免疫和炎症反应

EG通过与不同蛋白相互作用,在调节宿主免疫和炎症反应中扮演了重要角色。在炎症反应过程中,细胞表面GAGs和趋化因子之间的相互作用驱动炎症部位趋化因子的触觉梯度或固定梯度的形成,甚至产生“趋化因子云”(chemokine cloud),从而改变糖萼层内趋化因子的局部浓度^[17]。糖萼层中局部趋化因子梯度的形成,促进了趋化因子与白细胞表面受体的结合,及白细胞的活化,最终使白细胞从循环血液迁移到炎症部位^[18]。Frevet等^[19]采用定量组织结合测定法,从肺组织中去除HS或CS,发现该处理能够显著降低白细胞介素IL-8的结合。

补体级联(complement cascade)作为对抗入侵细菌的有力武器,是宿主先天免疫系统的一部分,但同时也需要严格调控,以防止其对宿主组织的不当攻击和损害。糖萼中高度硫酸化的GAGs介导了经典途径(classical pathway,CP)、凝集素途径(lectin pathway,LP)和替代途径(alternative pathway,AP)3种补体途径的抑制,在免疫调节中同样扮演了重要的角色^[20]。

2 衰老与糖萼的退行性改变

2.1 衰老引发糖萼变薄、降解

Zolla等^[21]通过阿辛蓝(alcian blue)染色、透射电子显微镜扫描观察9、24月龄大鼠淋巴收集管内皮糖萼,发现9月龄大鼠内皮表面覆盖着完整、连

续的糖萼层;而相比之下,24月龄大鼠内皮表面糖萼显著变薄,且变得不连续。

来自81例健康志愿者(21~90岁,男性54名,女性27名)的数据表明,伴随年龄增长,红细胞膜上唾液酸(sialic acid, SA)的含量呈下降趋势,而该结果很可能是由衰老引发的氧化应激所致^[22]。至于EG中的唾液酸成分是否也会发生类似的变化,该项研究并未涉及。

近期,来自美国犹他大学的研究团队通过活体显微镜和透射电镜,对幼龄(6月龄)和老龄(24.6月龄)小鼠C57BL6,以及志愿者(29,60岁)的微血管糖萼进行观察。结果表明,老龄小鼠的肠系膜和骨骼肌微血管糖萼厚度相比幼龄小鼠,减小了51%~54%。而老年志愿者舌下腺微血管糖萼的厚度则相比青年减少了33%。进一步地,衰老将导致糖萼的物理屏障功能减弱,血管的通透性增加。从血管功能的角度来看,老龄小鼠和人的有效灌注微血管密度相比幼龄(青年)减小16%~21%,红细胞压积降低5%~14%^[6,23-24]。此项研究结果证实了在自然衰老过程中EG将受到影响,且伴随微血管灌注功能的改变。

Carge等^[25]通过在体外培养年轻(10周龄)和老龄(65周龄)小鼠主动脉内皮细胞的流动剪切力加载实验研究表明,老龄小鼠主动脉内皮细胞糖萼降解更甚,与之对应,糖萼的厚度更薄;在模拟休克的刺激下,老龄小鼠内皮细胞糖萼的降解加剧程度远远高于年轻小鼠组。

从上述大鼠淋巴收集管、小鼠微血管、体外培养的小鼠主动脉内皮细胞,到人的舌下腺微循环,均证实衰老会引发糖萼降解,对应组织糖萼变薄,继而引发血管功能障碍。

2.2 衰老调控糖萼合成、降解相关基因的表达

研究表明,老年小鼠(23~27月龄,雄性,C57BL6)体内糖萼合成、脱落相关酶的表达水平也不同于年轻小鼠(4~6月龄,雄性,C57BL6)。例如,透明质酸合酶亚型2(hyaluronan synthase isoforms 2, Has2)基因在老年小鼠体内的表达量约为年轻小鼠的1/3,而透明质酸合酶亚型1(hyaluronan synthase isoforms 1, Has1)和透明质酸合酶亚型3(hyaluronan synthase isoforms 3, Has3)基因在老年和年轻小鼠中的表达相似;另一方面,老年

小鼠透明质酸酶亚型1(hyaluronidase isoforms 1, Hyal1)和透明质酸酶亚型2(hyaluronidase isoforms 2, Hyal2)基因表达较年轻小鼠存在较大幅度降低,透明质酸蛋白聚糖连接蛋白1(hyaluronan and proteoglycan link protein 1, Hapln1)基因则表现出约2倍的上调表达趋势^[6,23]。在年龄介导的血管僵硬小鼠模型中,glypican-1表达降低,而在年轻小鼠中敲除glypican-1也会导致典型的老年血管表型,后续发现此蛋白的异常表达还与内皮功能障碍有关^[14]。

对9、24月龄大鼠淋巴收集管的蛋白组学分析表明,与糖萼相关的蛋白质包括versicans、aggrecans、proteoglycans、brevican、galectins、mucins、 agrin、clusterins在24月龄大鼠中,相比年轻组至少下调了2倍^[21]。

Reed等^[26]测定了4、14、24~26月龄小鼠大脑皮层HA的含量,发现其随年龄呈现增长的趋势。进一步研究证实,这种大脑皮层HA随年龄增多的现象是因为Has2的mRNA和蛋白质水平在老龄小鼠(24~26月龄)上调;另一方面,HA降解相关的透明质酸酶,及HA降解起到缓解作用的透明质酸黏素(hyaladherins)的表达水平则无显著变化所致。

作为血脑屏障的重要组分,P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)在 β 淀粉样肽(amyloid-beta peptides, A β)的清除过程中扮演了重要角色。P-gp仅在血管内皮细胞表达(可视为内皮细胞表面糖萼相关的糖蛋白之一)。研究已证实,伴随年龄增长,人血脑屏障P-gp的表达水平降低,这也许是导致A β 在脑组织堆积的重要原因^[27]。针对一项20~100岁人群(含阿尔茨海默病患者7例,平均年龄82.9岁;对照组14例,平均年龄63岁)脑组织尸检的临床数据表明,阿尔茨海默病患者脑组织内皮细胞的P-gp蛋白水平相比对照组显著下调;75岁以上人群P-gp的表达水平相比平均值降低;而P-gp表达水平随年龄的变化趋势与大鼠一致^[28]。此项研究进一步证实,临床通过降低P-gp水平来增加血脑屏障对药物通透性的治疗策略,很可能存在增加A β 在脑组织堆积的风险。

3 衰老引发的糖萼损伤与血管功能障碍

综上所述,衰老引发的糖萼损伤与血管老化的

关系十分微妙。一方面,现有研究已证实,在自然增龄过程中,糖萼的厚度会变薄,与糖萼合成、降解相关的酶的表达水平也会发生改变;与此同时,衰老伴随的机体氧化应激水平、炎性微环境等也可能造成糖萼损伤。另一方面,糖萼受损很可能作为血管老化的起始事件,继而改变血管内皮的力传导、引发血管内皮屏障功能障碍、减弱糖萼对于血浆氧化分子,以及循环免疫细胞的缓冲功能,最终导致一系列老龄相关的血管功能障碍。

3.1 血管舒缩功能受损

自然增龄过程中,衰老引发的糖萼老化很可能通过几个方面影响血管的舒缩功能,最终引发血管硬化:①衰老引发糖萼中 HS 脱落,继而影响其力传导功能,降低流动剪切力介导的 NO 释放水平^[14,29];②衰老引发糖萼中 syndecan 损伤,而后者在上述力传导过程中可与 HS 和 glypican-1 发生相互作用,这种相互作用导致 eNOS 的活性增强,并促进 NO 的产生和释放^[9];③与血管舒张息息相关的流动敏感钾离子通道(inward rectifier potassium ion channel, Kir),其活性具有 HS 高度依赖性,具体来讲,HS 与细胞外基质中硫酸蛋白、肝素结合蛋白、细胞外基质组分等分子相互作用,从而激活了 Kir 通道^[30]。因此,衰老引发的 HS 脱落必然会抑制 Kir 的活性,在一定程度上削弱血管舒张能力;④EG 本身可缓冲氧化应激诱导的内皮功能障碍,减轻血浆氧化剂对内皮 NO 生物利用度的抑制,来增强内皮功能^[31]。因此,当糖萼的组分被降解时,同样的氧化应激程度可能会导致对于 NO 生物利用度的抑制加剧,进一步削弱血管舒张功能。

3.2 血管通透性增大

一项针对动脉粥样硬化形成过程中糖萼厚度和血小板-血管壁相互作用的研究发现,血小板在颈动脉分叉处的黏附在动脉粥样硬化形成过程中显著增加,在同一区域可检测到糖萼随年龄增长的异常,这与糖萼受损引发屏障功能被削弱相吻合^[32]。

Groen 等^[33]通过侧流暗场成像技术(sidestream darkfield imaging)测定了健康年轻志愿者[(24±1)岁]、健康老年志愿者[(70±2)岁]、老年同时伴随 2 型糖尿病病人[(70±2)岁]各 15 例舌下腺微血管的红细胞灌注边界区域(perfused boundary region, PBR),以此作为衡量糖萼屏障功能的指标。

结果表明,2 型糖尿病病人 PBR 相比年轻志愿者显著增宽。

Machin 等^[23]通过活体显微镜,以 PBR 作为衡量糖萼屏障功能的指标,首次报道了在老龄小鼠(24 月龄)和老年人(60 岁)微循环中,PBR 增高了 10%~22%,提示老龄将伴随糖萼屏障功能的下降。综上所述,衰老引发的糖萼屏障功能受损,进而通过调节溶质、血细胞,以及内皮细胞间连接的表达,最终影响血管的通透性。

3.3 免疫和炎症反应失调

衰老引发的糖萼损伤会使得涉及宿主免疫和炎症反应的蛋白与内皮糖萼的相互作用失调,在一定程度上导致宿主免疫和炎症调节异常,引发补体沉积和组织损伤加剧^[34]。

一方面,糖萼通过力传导可激活细胞内信号分子,如调节 NFκB 转录活性的 Rho 家族 GTP 酶,进而调节参与炎性小体组装的核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3, NLRP3)、IL-1β 的前体蛋白(pro-interleukin 1 beta, pro-IL-1β)和 IL-18 的前体蛋白(pro-interleukin 18, pro-IL-18)基因的表达^[35]。

另一方面,衰老引发的糖萼损伤通过影响 CP、LP 和 AP 这 3 种补体途径来引起宿主免疫失调。对于经典途径来讲,研究发现 GAGs 能够与补体系统中的组分 C1q 结合并形成复合物,从而抑制 C1q 使其无法有效地结合到抗原-抗体复合物上,最终阻断经典途径的激活。同样地,对于凝集素途径的抑制也是通过 GAGs 与凝集素的结合来干扰凝集素的功能而得以实现。对于替代途径来讲,高度硫酸化的 GAGs 能够与甘露糖结合凝集素相关丝氨酸蛋白酶 2(mannan-binding lectin-associated serine protease 2, MASP-2)形成复合物,从而阻断 MASP-2 的活性,最终保护组织免受 LP 补体激活的影响^[20]。血浆中存在的补体调节因子,如补体因子 H 和丙烯醛等,可与宿主和病原体膜上的 GAGs 相互作用^[36],促进补体抑制剂(如 C1 抑制剂)或激活剂的结合来指导适当的补体反应,防止更多不必要的组织损伤^[34]。另有实验证明,糖萼中的 GAGs 可通过与 H 因子的相互作用促进组织结合补体因子 B 的失活而参与保护宿主组织免受补体损伤^[37]。

然而,除以上涉及的血管舒缩功能、血管壁通

透性、免疫和炎症反应外,在生理条件下,糖萼中的HS可通过结合抗凝血酶 III(antithrombin, ATIII)增强其抗凝活性^[38]。另外,糖萼通过力传导,调控血栓调节蛋白和组织纤溶酶原的活性,维持一系列涉及血栓形成和纤维蛋白溶解的细胞内信号通路,如PI3K/Akt通路、PAR通路、NF- κ B通路等信号通路的正常运转^[35]。因此,衰老引发的EG损伤还可能影响血管内皮的凝血和抗凝功能。

4 结论与展望

综上所述,EG因其特殊的生理位置,在维持血管稳态方面至关重要。尽管科学界对衰老引发血管功能障碍,从大动脉到微循环,从结构到功能,都开展了系列深入的研究,但目前有关衰老过程中EG会发生何种变化,除来自美国犹他大学的研究小组有关微循环糖萼厚度改变的报道外^[23],有关大动脉糖萼随增龄的变化,还鲜有报道。而动脉粥样硬化等老年性心血管疾病恰恰高发于大、中等动脉,如颈内动脉窦、冠状动脉等。既往研究已证实,EG受损是动脉粥样硬化的初始事件。临床上,也将通过灌注边界区域测量估算得到的EG尺寸作为动脉粥样硬化早期的诊断指标。基于此,未来研究从“结构决定功能”的角度,聚焦自然增龄过程中大动脉糖萼的厚度、成分、微观结构、力学特性等变化规律及其与血管功能障碍的相关性,对于预防、诊断、治疗动脉粥样硬化等年龄相关性心血管疾病具有重要意义。

除心血管疾病外,衰老还伴随神经退行性疾病的高发。研究表明,阿尔茨海默病在某种程度上与脑血管功能障碍存在关联^[39]。进一步地,临床上测得的肱动脉流动介导的舒张功能受损与阿尔兹海默病的严重程度存在统计学上的相关性。从这个角度出发,开展衰老引发的血管糖萼变化研究,对于理解血管功能障碍机制,对应开发神经退行性疾病的诊疗方法也具有指导意义。

早期针对糖尿病患者的一项研究表明,通过饮食中补给糖萼前体分子,可使糖尿病引发的受损糖萼得到恢复^[40]。然而,尚不清楚这种策略对于衰老引发的糖萼损伤同样适用。无论如何,衰老引发的糖萼损伤很可能作为血管功能性障碍的初发事件。以糖萼作为潜在靶点,通过药物、饮食、运动,或者

缺血性训练等方式,开展血管糖萼的康复研究,很可能对于提高老年人群的血管内皮功能,增加NO生物利用度,减少氧化应激损伤,最终预防老年性疾病、提高生活质量具有广阔的应用前景。

利益冲突声明:无。

作者贡献声明:张梓航负责文献收集、初稿撰写、修改稿文字校正、作图;高朵岚、戴鑫源、刘添、李明翰负责文献收集、参与撰写初稿;邓小燕负责对论文结构和内容提出关键性修改建议;康红艳负责论文构思、撰写、修改。

参考文献:

- [1] World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs) [R]. Geneva: World Health Organization, 2018.
- [2] 孔启航,周骏腾,刘小菁. 心血管生物力学与力学生物学2022年研究进展[J]. 医用生物力学, 2013, 38(3): 420-432.
KANG QH, ZHOU JT, LIU XJ. Advances in cardiovascular biomechanics and mechanobiology research in 2022 [J]. J Med Biomech, 2013, 38(3): 420-432.
- [3] XU X, WANG B, REN C, et al. Age-related impairment of vascular structure and functions [J]. Aging Dis, 2017, 8(5): 590-610.
- [4] TARBELL JM, CANCEL LM. The glycocalyx and its significance in human medicine [J]. J Intern Med, 2016, 280(1): 97-113.
- [5] BROEKHUIZEN LN, MOOIJ HL, KASTELEIN JJ, et al. Endothelial glycocalyx as potential diagnostic and therapeutic target in cardiovascular disease [J]. Curr Opin Lipidol, 2009, 20(1): 57-62.
- [6] MACHIN DR, PHUONG TT, DONATO AJ. The role of the endothelial glycocalyx in advanced age and cardiovascular disease [J]. Curr Opin Pharmacol, 2019(45): 66-71.
- [7] PRIES AR, SECOMB TW. Microvascular blood viscosity *in vivo* and the endothelial surface layer [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 289(6): H2657-2664.
- [8] 刘德运,龚晓波. 红细胞在毛细血管中的运动特征分析 [J]. 医用生物力学, 2023, 38(1): 123-128.
LIU DY, GONG XB. Analysis on motion characteristics of red blood cells in capillaries [J]. J Med Biomech, 2023, 38(1): 123-128.
- [9] EBONG EE, LOPEZ-QUINTERO SV, RIZZO V, et al. Shear-induced endothelial NOS activation and remodeling via heparan sulfate, glypican-1, and syndecan-1 [J]. Integr Biol, 2014, 6(3): 338-347.
- [10] DELA PAZ NG, MELCHIOR B, SHAYO FY, et al. Heparan sulfates mediate the interaction between platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) and the G α q/11 subunits of heterotrimeric G proteins [J]. J Biol Chem, 2014, 289(11): 7413-7424.
- [11] CHANG RL, UEKI IF, TROY JL, et al. Permselectivity of the glomerular capillary wall to macromolecules. II. Experimental studies in rats using neutral dextran [J].

- Biophys J, 1975, 15(9): 887-906.
- [12] GRAHAM RC, KARNOVSKY MJ. Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers [J]. J Exp Med, 1966, 124(6): 1123-1134.
- [13] BANSCH P, NELSON A, OHLSSON T, *et al.* Effect of charge on microvascular permeability in early experimental sepsis in the rat [J]. Microvasc Res, 2011, 82(3): 339-345.
- [14] MILUSEV A, RIEBEN R, SORVILLO N. The endothelial glycocalyx: A possible therapeutic target in cardiovascular disorders [J]. Front Cardiovasc Med, 2022(9): 897087.
- [15] FREEMAN CG, PARISH CR, KNOX KJ, *et al.* The accumulation of circulating histones on heparan sulphate in the capillary glycocalyx of the lungs [J]. Biomaterials, 2013, 34(22): 5670-5676.
- [16] MENSAH SA, CHENG MJ, HOMAYONI H, *et al.* Regeneration of glycocalyx by heparan sulfate and sphingosine 1-phosphate restores inter-endothelial communication [J]. PLoS One, 2017, 12(10): e0186116.
- [17] GRAHAM GJ, HANDEL TM, PROUDFOOT AEI. Leukocyte adhesion: Reconceptualizing chemokine presentation by glycosaminoglycans [J]. Trends Immunol, 2019, 40(6): 472-481.
- [18] KUSCHERT GS, COULIN F, POWER CA, *et al.* Glycosaminoglycans interact selectively with chemokines and modulate receptor binding and cellular responses [J]. Biochemistry, 1999, 38(39): 12959-12968.
- [19] FREVERT CW, KINSELLA MG, VATHANAPRIDA C, *et al.* Binding of interleukin-8 to heparan sulfate and chondroitin sulfate in lung tissue [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2003, 28(4): 464-472.
- [20] TALSMA DT, POPPELAARS F, DAM W, *et al.* MASP-2 is a heparin-binding protease; identification of blocking oligosaccharides [J]. Front Immunol, 2020(11): 732.
- [21] ZOLLA V, NIZAMUTDINOVA IT, SCHARF B, *et al.* Aging-related anatomical and biochemical changes in lymphatic collectors impair lymph transport, fluid homeostasis, and pathogen clearance [J]. Aging Cell, 2015, 14(4): 582-594.
- [22] MEHDI MM, SINGH P, RIZVI SI. Erythrocyte sialic acid content during aging in humans: Correlation with markers of oxidative stress [J]. Dis Markers, 2012, 32(3): 179-186.
- [23] MACHIN DR, BLOOM SI, CAMPBELL RA, *et al.* Advanced age results in a diminished endothelial glycocalyx [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2018, 315(3): H531-H539.
- [24] FREED JK, DURAND MJ. There is no way to sugar coat it, you are getting older [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2018, 315(3): H632-H633.
- [25] CARGE MJ, LIBERATI DM, DIEBEL LN. A biomimetic shock model on the effect of endothelial aging on vascular barrier properties [J]. J Trauma Acute Care Surg, 2021, 91(5): 849-855.
- [26] REED MJ, VERNON RB, DAMODARASAMY M, *et al.* Microvasculature of the mouse cerebral cortex exhibits increased accumulation and synthesis of hyaluronan with aging [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2017(726): 740-746.
- [27] VOGELGESANG S, CASCORBI I, SCHROEDER E, *et al.* Deposition of Alzheimer's beta-amyloid is inversely correlated with P-glycoprotein expression in the brains of elderly non-demented humans [J]. Pharmacogenetics, 2002(127): 535-541.
- [28] CHIU C, MILLER MC, MONAHAN R, *et al.* P-glycoprotein expression and amyloid accumulation in human aging and Alzheimer's disease: Preliminary observations [J]. Neurobiol Aging, 2015, 36(9): 2475-2482.
- [29] FLORIAN JA, KOSKY JR, AINSLIE K, *et al.* Heparan sulfate proteoglycan is a mechanosensor on endothelial cells [J]. Circ Res, 2003, 93(10): e136-42.
- [30] AHN SJ, LE MASTER E, LEE JC, *et al.* Differential effects of obesity on visceral versus subcutaneous adipose arteries: Role of shear-activated Kir2.1 and alterations to the glycocalyx [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2022, 322(2): H156-H166.
- [31] LI Q, BOLLI R, QIU Y, *et al.* Gene therapy with extracellular superoxide dismutase attenuates myocardial stunning in conscious rabbits [J]. Circulation, 1998, 98(14): 1438-1448.
- [32] REITSMA S, OUDE EGBRINK MG, HEIJNEN VV, *et al.* Endothelial glycocalyx thickness and platelet-vessel wall interactions during atherogenesis [J]. Thromb Haemost, 2011, 106(5): 939-946.
- [33] GROEN BB, HAMER HM, SNIJDERS T, *et al.* Skeletal muscle capillary density and microvascular function are compromised with aging and type 2 diabetes [J]. J Appl Physiol, 2014, 116(8): 998-1005.
- [34] WUILLEMIN WA, TE VELTHUIS H, LUBBERS YT, *et al.* Potentiation of C1 inhibitor by glycosaminoglycans: dextran sulfate species are effective inhibitors of *in vitro* complement activation in plasma [J]. J Immunol, 1997, 159(4): 1953-1960.
- [35] LI YS, HAGA JH, CHIEN S. Molecular basis of the effects of shear stress on vascular endothelial cells [J]. J Biomech, 2005, 38(10): 1949-1971.
- [36] LANGFORD-SMITH A, DAY AJ, BISHOP PN, *et al.* Complementing the sugar code: Role of GAGs and sialic acid in complement regulation [J]. Front Immunol, 2015(6): 25.
- [37] KAJANDER T, LEHTINEN MJ, HYVARINEN S, *et al.* Dual interaction of factor H with C3d and glycosaminoglycans in host-nonhost discrimination by complement [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(7): 2897-902.
- [38] STERN D, NAWROTH P, MARCUM J, *et al.* Interaction of antithrombin III with bovine aortic segments. Role of heparin in binding and enhanced anticoagulant activity [J]. J Clin Invest, 1985, 75(1): 272-279.
- [39] GRAMMAS P. Neurovascular dysfunction, inflammation and endothelial activation: Implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. J Neuroinflammation, 2011(8): 26.
- [40] BROEKHUIZEN LN, LEMKES BA, MOOIJ HL, *et al.* Effect of sulodexide on endothelial glycocalyx and vascular permeability in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Diabetologia, 2010, 53(12): 2646-2455.