

УДК 616-002-008.953-092+577.29

## ГИАЛУРОНАН КАК БИОМАРКЕР ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ СЕПСИСЕ

<sup>1</sup>Пономаренко Е.А., <sup>1</sup>Диатроптова М.А., <sup>1</sup>Мхитаров В.А.,  
<sup>1</sup>Хомякова Т.И., <sup>2</sup>Бабаев М.А., <sup>1</sup>Артемьева К.А., <sup>1</sup>Макарова О.В.

<sup>1</sup>НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына  
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»,  
Москва, e-mail: ponomarenkoea75@mail.ru;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»,  
Москва, e-mail: maxbabaev@mail.ru

Цель исследования – анализ современных литературных данных о роли гиалуронана в механизмах развития полиорганной недостаточности при системном воспалительном ответе и сепсисе. Для анализа использованы статьи баз данных PubMed, Scopus, MedLine, Web of Science, которые являются основными источниками информации. Сепсис определяют как опасную для жизни дисфункцию органов, вызванную нарушением регуляции реакции организма на инфекцию. Сепсис – угрожающее для жизни критическое состояние, одним из биомаркеров которого является определение концентрации гиалуронана в различных средах организма. Этот биомаркер позволяет выявить нарушение целостности эндотелия и прогнозировать развитие полиорганной дисфункции и неблагоприятные исходы критических состояний. В обзоре проанализирована возможность использования гиалуронана как биомаркера эндотелиальной дисфункции при сепсисе. Представлены данные по методам выявления гиалуронана, его количественной оценке. В эксперименте у животных с сепсисом выявлена взаимосвязь между концентрацией гиалуронана в крови и моче и развитием в более позднем периоде почечной и печеночной недостаточности, острого респираторного дистресс-синдрома, что открывает перспективы использования этого биомаркера в клинике.

**Ключевые слова:** гиалуронан, биомаркеры сепсиса, эндотелиальная дисфункция, гликокаликс, полиорганная недостаточность

*Обзор написан в рамках исполнения государственного задания НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», НИОКТР № 123030700027-5 «Поиск новых биомаркеров для прогнозирования индивидуального риска полиорганной дисфункции у пациентов кардиохирургического профиля».*

## HYALURONAN AS A BIOMARKER OF MULTIPLE ORGAN FAILURE IN SEPSIS

<sup>1</sup>Ponomarenko E.A., <sup>1</sup>Diatroptova M.A., <sup>1</sup>Mkhitarov V.A.,  
<sup>1</sup>Khomyakova T.I., <sup>2</sup>Babaev M.A., <sup>1</sup>Artemeva K.A., <sup>1</sup>Makarova O.V.

<sup>1</sup>Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Petrovsky National Research  
Centre of Surgery, Moscow, e-mail: ponomarenkoea75@mail.ru;

<sup>2</sup>Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, e-mail: maxbabaev@mail.ru

The purpose of the study was to analyze recent literature data regarding the role of hyaluronan in the mechanisms of multiple organ failure development due to systemic inflammatory response and sepsis. Articles from PubMed, Scopus, MedLine, and Web of Science databases, which are the main sources of information, were used for analysis. Sepsis is a pathological condition defined as the life-threatening organ dysfunction caused by dysregulation of the body's response to infection. One of its markers is the determination of the hyaluronan concentration in various body liquids. This biomarker makes it possible to identify a violation of the integrity of the endothelium and to predict the development of multiple organ dysfunction and unfavorable outcomes. The review analyzes the possibility of using hyaluronan as a biomarker of endothelial dysfunction in sepsis. Data on methods for identifying hyaluronan and its quantitative assessment are presented. Experimental models of sepsis revealed a relationship between the concentration of hyaluronan in the blood and urine and the development of renal and liver failure, as well as acute respiratory distress syndrome in a later period, which opens prospects for the use of this biomarker in the clinic.

**Keywords:** hyaluronan, biomarkers of sepsis, endothelial dysfunction, glycocalyx, multiple organ failure

*The review was written within the framework of the execution of the state assignment of the Scientific Research Institute of Human Morphology named after Academician A.P. Avtsyn of the Russian Scientific Center of Surgery named after Academician B.V. Petrovsky, R&D No. 123030700027-5 “Search for new biomarkers for predicting the individual risk of multiple organ dysfunction in patients with a cardiac surgical profile”.*

### Введение

Синдром полиорганной дисфункции возникает в результате дисрегуляции системной воспалительной реакции организма после перенесенного критического со-

стояния и характеризуется повреждением тканей двух и более органов [1]. Согласно современной концепции, в основе системных органных нарушений при системном воспалительном ответе и сепсисе лежат на-

рушения структуры и функции различных клеток, в первую очередь эндотелиальных [2]. В связи с этим поиск биомаркеров, которые позволили бы в ранние сроки выявить эндотелиальную дисфункцию, представляет не только теоретический интерес, но и является одной из актуальных задач практической медицины критических состояний, в частности диагностики и лечения сепсиса [3, 4].

Согласно консенсусу «Сепсис-3», это заболевание определяют как опасную для жизни дисфункцию органов, вызванную нарушением регуляции реакции организма на инфекцию [5, 6]. Известно около 1000 биомаркеров сепсиса, но в связи с высокой гетерогенностью этого синдрома все они недостаточно чувствительные и специфичные. В настоящее время усилия исследователей направлены на поиск таких биомаркеров, которые бы отражали специфические биологические процессы, поддающиеся медикаментозной коррекции [7]. Показано, что процессы нарушения структуры и функции эндотелия связаны с повреждением гликокаликса, а оно может быть охарактеризовано изменениями уровня гиалуронана.

В качестве биомаркеров сепсиса используют определение СРБ (С-реактивный белок), прокальцитонина, пресепсина [7, 8]. Содержание прокальцитонина может повышаться не только при сепсисе, но и системном воспалительном ответе, обусловленном травмой [7]. Пресепсин более специфичен для грамотрицательного сепсиса. Липополисахарид клеточной стенки грамотрицательных бактерий взаимодействует с CD14 рецепторами макрофагов, гранулоцитов, моноцитов. CD14 является частью врожденной иммунной системы, выступающей в качестве рецептора для липополисахаридов (ЛПС) бактерий активирующих провоспалительный сигнальный каскад.

Рецептор существует в двух формах: мембраносвязанный тип (mCD14) и растворимая форма (sCD14). Во время прогрессирования сепсиса происходит расщепление N-концевого фрагмента растворимой формы sCD14 эластазой, образуется белок молекулярной массой 13 кДа – пресепсин. Уровень пресепсина повышается в раннем периоде сепсиса [8]. Также к маркерам сепсиса относят и лактат, который постоянно образуется в эритроцитах, тканях разных органов и утилизируется печенью путем окисления или переводом в глюкозу. Нарушение детоксикационной функции печени при сепсисе приводит к повышению уровня лактата в крови [7]. Одним из маркеров полиорганной дисфункции при сепсисе может быть гиалуронан.

**Цель исследования** – анализ современных литературных данных о роли гиалуронана в механизмах развития эндотелиальной дисфункции и полиорганной недостаточности при системном воспалительном ответе и сепсисе

#### Материалы и методы исследования

Для решения поставленных задач были использованы 42 статьи баз данных PubMed, Scopus, MedLine, Web of Science, которые являются основными источниками информации. Для написания обзора применялся информационно-аналитический метод.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Гиалуронан (син. гиалуроновая кислота, гиалуронат) – это углеводный биополимер, гликозаминогликан, молекулярная масса которого варьирует от 0,4 до 8000 кДа [9]. Структура его представлена неразветвленной цепью дисахаридов: N-ацетил-D-глюкозамина и D-глюкуроновой кислоты, соединенных между собой чередующейся  $\beta$ -1,3,  $\beta$ -1,4 гликозидной связью (рис. 1) [10, 11].

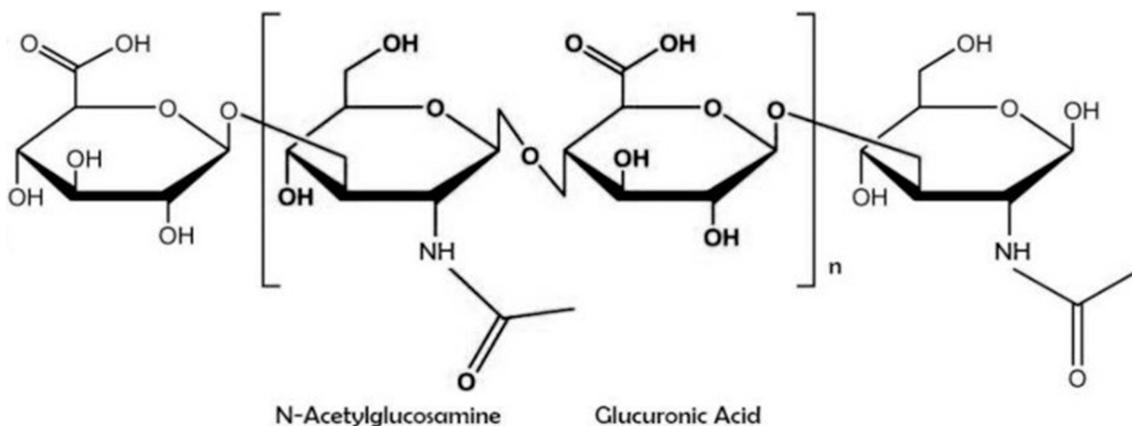


Рис. 1. Химическое строение гиалуронана [12]

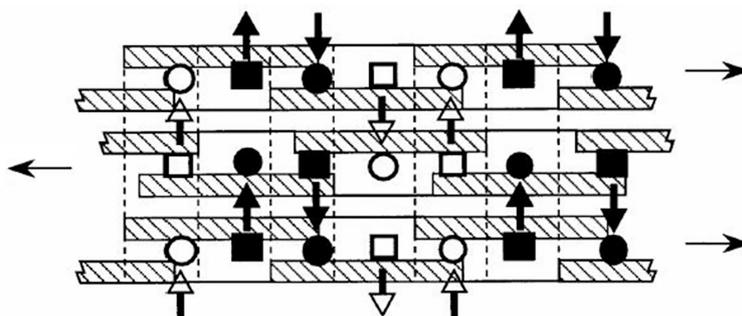


Рис. 2. Схематичное отображение межмолекулярных взаимодействий трех цепей гиалуронана [13]. Заштрихованы гидрофобные участки молекул, вертикальные пунктирные линии обозначают углеводные единицы, ацетамидные (■ и □) и карбоксилатные группы (● и ○) расположены так, что между ними возможны водородные связи

С помощью ядерно-магнитного резонанса в молекуле гиалуронана выявлены внутримолекулярные связи, которые формируют витую спираль из линейного полимера. Обе стороны молекулы активны за счет радикалов  $\text{CH}_2\text{OH}$  и  $\text{COOH}$  с одной стороны и  $\text{NHCOCH}_3$  с другой. Структура молекулы позволяет устанавливать стабильные межмолекулярные взаимодействия с образованием сетчатой структуры с чередующимися гидрофильными и гидрофобными участками, что делает ее избирательно проницаемой для различных соединений (рис. 2) [13].

Биосинтез гиалуронана происходит на внутренней поверхности плазматической мембраны клетки с помощью ферментов гиалуронансинтаз (hyaluronan synthase HAS). HAS – это гликозилтрансферазы, представляющие собой интегральные мембранные белки [14]. В геноме человека выявлены гены, кодирующие три разных изофермента HAS 1, 2 и 3 [15]. HAS 2 является наиболее изученным ферментом, участвующим в синтезе гиалуронана [15, 16]. HAS распознает субстраты для синтеза – нуклеотидные дисахариды (уридиндифосфат-глюкуроновую кислоту и уридиндифосфат-N-ацетилглюкозамин) и катализирует образование  $\beta$ -1,3 и  $\beta$ -1,4 связей [14, 17, 18]. Связанные с HAS липиды мембраны клетки участвуют в формировании пор для прямой транслокации синтезирующегося гиалуронана. Высказывается мнение, что HAS может быть также связан с механизмом транспорта полисахаридов на мембране клетки [14]. Синтезированный гиалуронан выводится через плазматическую мембрану во внеклеточное пространство, таким образом, обеспечивая неограниченный рост полимера, и взаимодействует с рецептором CD44 [14, 19, 20]. CD44 принадлежит к семейству гиалуронансвязывающих бел-

ков и располагается трансмембранно [21]. CD44 имеет множество изоформ, но в целом структура его состоит из экстрацеллюлярной, трансмембранной и цитоплазматической частей. Внеклеточная часть содержит концевой домен с аминогруппой, который связывается с гиалуронаном [22]. Разрушение гиалуронана происходит под действием ферментов гиалуронидаз (hyaluronidase HYAL1 и 2). Сначала расщепление молекулы гиалуронана идет на уровне плазматической мембраны с помощью HYAL2 при взаимодействии с рецепторами CD44, затем фрагменты гиалуроновой кислоты интернализуются, доставляются в эндосомы и лизосомы, далее фрагменты гиалуронана разрушаются HYAL1, лизосомальными ферментами [15, 19].

Гиалуронан входит в состав гликокаликса, который образует желеобразный слой на поверхности эндотелиальных клеток кровеносных сосудов. Основу гликокаликса составляют синдекан-1-4 (более 50%), хондроитинсульфат, гепарансульфат, гиалуронан [20, 23]. Гиалуронан, являясь линейным полимером, фиксируется на эндотелии сосудов при образовании связи с трансмембранными рецепторами эндотелиальных клеток CD44 [20].

Гликокаликс выполняет несколько функций: служит барьером между эндотелием сосудов и кровью, обладает избирательной проницаемостью, создавая градиент осмотического давления между стенкой сосуда и кровотоком. Гликокаликс является резервуаром для таких ферментативных систем, как липопротеинлипаза, внеклеточная супероксиддисмутаза, антитромбин III, антикоагулянты гепарансульфаты и тромбомодулин [23]. Эти ферменты участвуют в гомеостазе липидов, антикоагулянтных реакциях, определяют способность сосудистой стенки реагировать на повреждающие воздей-

ствия [23, 24]. При нарушении гомеостаза крови происходит разрушение гликокаликса, что приводит к дисбалансу ферментативных систем, нарушению выделения NO, расширению сосудов и повышению их проницаемости [23].

При сепсисе происходит деградация гликокаликса, так как при воздействии активных форм кислорода, провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) происходит активация ферментов гепараназы, гиалуронидазы, металлопротеиназы, что приводит к разрушению гликокаликса эндотелиальных клеток сосудов [24]. Эндотоксемия при сепсисе вызывает эндотелиальную дисфункцию. В клетках эндотелия сосудов нарушается механотрансдукция, снижается выработка НАДН-зависимого белка сиртуина-1, который регулирует клеточные процессы и метаболические пути. Повышается образование активных форм кислорода, активируются металлопротеиназы, гиалуронидаза. Металлопротеиназы (ММП-2 и ММП-9) в активной и проактивной формах хранятся в везикулах эндотелиальных клеток и могут высвободиться этими клетками при сепсисе, разрушая гликокаликс сосудов. Гиалуронидаза расщепляет гиалуронан на апикальной поверхности эндотелиальных клеток. При сепсисе снижение сиртуина-1 приводит к переходу NF- $\kappa$ B из неактивной формы в активную, происходит транслокация последней в ядро клетки и активация синтеза гепараназы. Гепараназа синтезируется в виде препрогепараназы, прогепараназы в эндоплазматическом ретикулуме, транспортируется в аппарат Гольджи, где упаковывается в везикулы и затем секретруется [25, 26]. В результате эндотелиальной дисфункции, активации ферментов эндотелиальных клеток сосудов повышается адгезия и миграция нейтрофилов из кровеносного русла, увеличивается проницаемость эндотелия для белков и жидкости, нарушается передача сигналов NO [27, 28]. В итоге это приводит к полиорганной недостаточности, характеризующейся острым респираторным дистресс-синдромом [27], печеночной и почечной недостаточностью. Компоненты гликокаликса, в частности фрагменты молекулы гиалуронана, попадающие в кровоток, могут служить биомаркерами эндотелиальной дисфункции при сепсисе, так как по уровню гиалуронана можно прогнозировать развитие полиорганной недостаточности [24, 26, 27].

Воздействие гиалуронидаз на гиалуронан было исследовано с помощью ядерно-магнитного резонанса  $^{13}\text{C}$ . Scott J.E с соавт. в эксперименте рассмотрели спектр  $^{13}\text{C}$  гиалуронана ( $=10^6$ ) и сравнивали со спек-

тром образца, подвергнутого воздействию гиалуронидазы [13]. Спектры  $^{13}\text{C}$  были сопоставимы, что говорит об отсутствии изменений в базовой химической структуре молекулы. Под воздействием гиалуронидаз уменьшается молекулярная масса гиалуронана и образуется тетрасахарид [13].

В клинических и экспериментальных исследованиях измерение содержания гиалуронана в сыворотке крови проводится с помощью метода подобного ИФА. Это связано со структурной гомогенностью гиалуронана, наблюдающейся у разных позвоночных, поэтому антитела к нему получить сложно, так как они не являются специфичными [29, 30]. Для определения гиалуронана используются биотинилированные гиалуронан-связывающие белки (bHABP – HAspecific binding protein) – агрекан, версикан, нейрокан и бревикан, которые обладают высокой специфичностью [30]. Диапазон концентрации, который можно измерить данным методом, составляет 10–2500 нг/мл [31].

Анализ уровня гиалуронана возможен с помощью гельфильтрационной хроматографии (Sephacryl S-1000). Можно выделить гиалуронан из плазмы крови в виде фракций, содержащих фрагменты молекул с разной массой, а затем измерить его количество с помощью ELISA-набора [32].

Молекулярную массу гиалуронана можно определять также методом электрофореза в агарозном или полиакриламидном геле [33]. Гиалуронан имеет постоянное соотношение заряда к массе, независимо от длины молекулы. При проведении электрофореза под действием электрического поля при прохождении молекул через матрицу геля происходит разделение гиалуронана по размеру молекул. Для детектирования используется катионный краситель: Stains-All (3,3'-диметил-9-метил-4,5,4',5'-добензотиакрабоцианин). Сканирование окрашенных гелей позволяет получить количественные данные о распределении гиалуронана с разной молекулярной массой [33].

Анализ динамики изменения гиалуронана возможен не только при определении циркулирующих в крови молекул разной молекулярной массы, но и при оценке его продукции по экспрессии гена HAS 2 [15]. Уровни экспрессии изоформ HAS 1, 2, 3 различаются в тканях, что говорит о существовании множества местных регуляторных молекул, которые по-разному влияют на мРНК HAS и стабильность белка [34]. Так, HAS 1 и 3 экспрессируются в сердце, печени, скелетных мышцах, предстательной железе и яичниках. HAS 2 преобладает в сердце и подслизистой основе тонкой кишки [35].

Основная проблема определения гиалуронана в моче связана с его низкой концентрацией, поэтому используется высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрией. При разрушении гликокаликса клубочков почек в моче повышается уровень не только гиалуронана, но и гепарансульфата, концентрация последнего достаточно высокая, порядка мкг/мл. Поэтому при сепсисе более доступным является измерение в моче гепарансульфата. Его можно определять при помощи колориметрического метода с использованием диметилметиленового синего и ИФА-ридера [36].

Возможности широкого диагностического использования определения гиалуронана в сыворотке крови и моче у больных сепсисом ограничиваются тем, что методики его выявления трудоемки и не стандартизированы. В экспериментальных исследованиях при сепсисе гиалуронан рассматривается и как прогностический маркер, и как терапевтическое средство. Гиалуронан гидрофилен, обладает выраженными коллоидно-осмотическими свойствами. Поэтому некоторые исследователи предпринимают попытки использования этого соединения для коррекции гемодинамических нарушений при сепсисе. Так, в эксперименте свиньям с перитонитом, моделированным путем введения в брюшную полость кала 2 г/кг массы тела, с терапевтической целью внутривенно вводили растворы гиалуронана с молекулярной массой 1560 кДа. В сыворотке крови у животных с сепсисом через 18 ч после развития гемодинамических нарушений, достоверно в 3 раза повышался уровень гиалуронана в крови, причем как высоко-, так и низкомолекулярных его соединений. В группе с внутривенным введением растворов гиалуронана его уровень измеряли в сыворотке крови через 6, 12, 18 ч от начала гемодинамических нарушений, и уровень гиалуронана был выше, чем в группе животных с сепсисом, за счет экзогенного введения препарата [32].

В эксперименте изменения уровня гиалуронана при сепсисе изучены на крысах. При моделировании сепсиса с помощью внутриартериального введения ЛПС (липолисахарида) в группе животных с искусственной вентиляцией легких было выявлено острое повреждение легких в течение 4 ч после введения. Для исследования влияния гиалуронана в модели сепсиса животным вводили внутрибрюшинно высокомолекулярный гиалуронан 1600 кДа в концентрации 0,35% за 18 ч до введения ЛПС и внутривенно через 1 ч после инъекции ЛПС в различных концентрациях (0,025;

0,05 или 0,1%). По результатам исследования в эксперименте показано, что гиалуронан, при профилактическом введении снижал воспалительную инфильтрацию легких нейтрофилами, уменьшал экспрессию мРНК и содержание макрофагального воспалительного белка-2 (Macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2)) и TNF $\alpha$ . При внутривенном введении гиалуронана через 1 ч после ЛПС отмечалось дозозависимое уменьшение повреждений легких [37]. Таким образом, при сепсисе гиалуронан может рассматриваться не только как маркер повреждения гликокаликса, но и как средство для коррекции органной недостаточности.

В клинических исследованиях с помощью масс-спектрометрии определяли уровни гиалуронана при септическом шоке и ОРДС. Появление гиалуронана в моче в первые 24 ч от постановки диагноза септический шок коррелирует с развитием острой почечной недостаточности в последующие 72 ч. Повышение гиалуронана в моче является предиктором летальности у пациентов с сепсисом [36].

В норме концентрация гиалуронана в сыворотке крови человека составляет 20–40 нг/мл. При сепсисе уровень гиалуронана повышается. При развитии септического шока его уровень был выше, чем при сепсисе. По данным ROC-анализа пороговое значение гиалуронана для прогнозирования смертности составило 441 нг/мл, а синдекана, который также входит в состав гликокаликса – 898 нг/мл. Специфичность и отрицательная прогностическая значимость этих показателей была высокой и составила 90% и 90% соответственно, на 7-е сутки для гиалуронана; 86% и 91% на 5-е, 7-е сутки для синдекана [38].

По результатам ряда исследований уровень экспрессии *HAS 2* в проксимальных канальцах почек человека возрастал при их повреждении и заболеваниях, связанных с интерстициальным фиброзом и атрофией почечных канальцев, диабетической нефропатией [39]. В эксперименте при моделировании сепсиса введением ЛПС установлена связь повреждения легких с повышенной экспрессией мРНК *HAS 3* и продукцией гиалуронана низкой молекулярной массы. Снижение экспрессии *HAS 3* с помощью блокатора фосфодиэстеразы 3 (милринон) приводило к уменьшению воспалительных изменений в легких при моделировании сепсиса [40].

При оценке уровня гиалуронана при сепсисе необходимо учитывать, что разрушенный гиалуронан метаболизируется локально, а также продукты его распада выводятся через эндотелиальные клетки синусоид-

ных капилляров печени [20, 41]. Уровень гиалуронана в крови является результатом баланса между образованием его фрагментов и их выведением [20]. Таким образом, повышение в крови гиалуронана может предшествовать развитию печеночной недостаточности при сепсисе [20, 32]. Появление гиалуронана в моче связано прежде всего с разрушением гликокаликса эндотелиальных клеток сосудов клубочков почек, что позволяет прогнозировать развитие почечной недостаточности [23, 36]. В норме гликокаликс эндотелиальных клеток капилляров ограничивает прохождение макромолекул, таких как альбумин, при фильтрации больших объемов плазмы, тем самым сохраняя гомеостаз крови [42].

### Заключение

Биология критических состояний является новым и перспективным направлением практической медицины. Поэтому исследование молекулярных механизмов тканевых повреждений при системном воспалительном ответе и сепсисе является необходимым для их диагностики и коррекции. Дальнейшая разработка методов коррекции эндотелиальной дисфункции на основе оценки содержания гиалуронана может быть перспективным направлением в лечении таких синдромов, как сепсис, острый респираторный дистресс-синдром, острая почечная и печеночная дисфункции.

### Список литературы

1. Marshall J.C., Deutschman C.S. The Multiple Organ Dysfunction Syndrome: Syndrome, Metaphor, and Unsolved Clinical Challenge // *Critical Care Medicine*. 2021. Vol. 49, Is. 9. P. 1402–1413. DOI: 10.1097/CCM.0000000000005139.
2. Adler M., Chavan A.R., Medzhitov R. Tissue Biology: In Search of a New Paradigm // *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2023. Vol. 39. P. 67–89. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-120420-113830.
3. Maslove D.M., Tang B., Shankar-Hari M., Lawler P.R., Angus D.C., Baillie J.K., Baron R.M., Bauer M., Buchman T.G., Calfee C.S., Dos Santos C.C., Giamarellos-Bourboulis E.J., Gordon A.C., Kellum J.A., Knight J.C., Leligdowicz A., McAuley D.F., McLean A.S., McNon D.K., Meyer N.J., Moldawer L.L., Reddy K., Reilly J.P., Russell J.A., Sevransky J.E., Seymour C.W., Shapiro N.I., Singer M., Summers C., Sweeney T.E., Thompson B.T., van der Poll T., Venkatesh B., Walley K.R., Walsh T.S., Ware L.B., Wong H.R., Zador Z.E., Marshall J.C. Redefining critical illness // *Nature Medicine*. 2022 Vol. 28, Is. 6. P. 1141–1148. DOI: 10.1038/s41591-022-01843-x.
4. Stevens J., Tezel O., Bonnefil V., Hapstack M., Atreya M.R. Biological basis of critical illness subclasses: from the bedside to the bench and back again // *Critical Care*. 2024. Vol. 28, Is. 1. P. 186. DOI: 10.1186/s13054-024-04959-3.
5. Seymour C.W., Liu V.X., Iwashyna T.J., Brunkhorst F.M., Rea T.D., Scherag A., Rubenfeld G., Kahn J.M., Shankar-Hari M., Singer M., Deutschman C.S., Escobar G.J., Angus D.C. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) // *JAMA*. 2016. Vol. 315, Is. 8. P. 762–74. DOI: 10.1001/jama.2016.0288.
6. Szic I., Adam V.N., Pejak D.T. Sepsis definition: what's new in the treatment guidelines // *Acta Clinica Croatica*. 2022. Vol. 61, Is. Suppl. 1. P. 67–72. DOI: 10.20471/acc.2022.61.s1.11.
7. Faix J.D. Biomarkers of sepsis // *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2013. Vol. 50, Is. 1. P. 23–36. DOI: 10.3109/10408363.2013.764490.
8. Velissaris D., Zareifopoulos N., Karamouzos V., Karanikolas E., Pierrakos C., Koniari I., Karanikolas M. Presepsin as a Diagnostic and Prognostic Biomarker in Sepsis // *Cureus*. 2021. Vol. 13, Is. 5. P. e15019. DOI: 10.7759/cureus.15019.
9. Snetkov P., Zakharova K., Morozkina S., Olekhovich R., Uspenskaya M. Hyaluronic Acid: The Influence of Molecular Weight on Structural, Physical, Physico-Chemical, and Degradable Properties of Biopolymer // *Polymers*. 2020. Vol. 12, Is. 8. P. 1800. DOI: 10.3390/polym12081800.
10. Kobayashi T., Chanmee T., Itano N. Hyaluronan: Metabolism and Function // *Biomolecules*. 2020. Vol. 10, Is. 11. P. 1525. DOI: 10.3390/biom10111525.
11. Valachova K., Hassan M.E., Soltes L. Hyaluronan: Sources, Structure, Features and Applications // *Molecules*. 2024. Vol. 29, Is. 3. P. 739. DOI: 10.3390/molecules29030739.
12. Lierova A., Kasparova J., Filipova A., Cizkova J., Pekarova L., Korecka L., Mannova N., Bilkova Z., Sinkorova Z. Hyaluronic Acid: Known for Almost a Century, but Still in Vogue // *Pharmaceutics*. 2022. Vol. 14, Is. 4. P. 838. DOI: 10.3390/pharmaceutics14040838.
13. Scott J.E., Heatley F. Hyaluronan forms specific stable tertiary structures in aqueous solution: a <sup>13</sup>C NMR study // *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*. 1999. Vol. 96, Is. 9. P. 4850–4855. DOI: 10.1073/pnas.96.9.4850.
14. DeAngelis P.L., Zimmer J. Hyaluronan synthases; mechanisms, myths, mysteries of three types of unique bifunctional glycosyltransferases // *Glycobiology*. 2023. Vol. 33, Is. 12. P. 1117–1127. DOI: 10.1093/glycob/cwad075.
15. Caon I., Parnigoni A., Viola M., Karousou E., Passi A., Vigetti D. Cell Energy Metabolism and Hyaluronan Synthesis // *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2021. Vol. 69, Is. 1. P. 35–47. DOI: 10.1369/0022155420929772.
16. Vigetti D., Karousou E., Viola M., Deleonibus S., De Luca G., Passi A. Hyaluronan: biosynthesis and signaling // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014. Vol. 1840. No 8. P. 2452–2459. DOI: 10.1016/j.bbagen.2014.02.001.
17. Bart G., Vico N.O., Hassinen A., Pujol F.M., Deen A.J., Ruusala A., Tammi R.H., Squire A., Heldin P., Kellokumpu S., Tammi M.I. Fluorescence resonance energy transfer (FRET) and proximity ligation assays reveal functionally relevant homo- and heteromeric complexes among hyaluronan synthases HAS1, HAS2, and HAS3 // *The Journal of Biological Chemistry*. 2015. Vol. 290, Is. 18. P. 11479–11490. DOI: 10.1074/jbc.M115.640581.
18. Maloney F.P., Kuklewicz J., Corey R.A., Bi Y., Ho R., Mateusiak L., Pardon E., Steyaert J., Stansfeld P.J., Zimmer J. Structure, substrate recognition and initiation of hyaluronan synthase // *Nature*. 2022. Vol. 604, Is. 7904. P. 195–201. DOI: 10.1038/s41586-022-04534-2.
19. Yamaguchi Y., Yamamoto H., Tobisawa Y., Irie F. TMEM2: A missing link in hyaluronan catabolism identified? // *Matrix Biology*. 2019. Is. 78–79. P. 139–146. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.03.020.
20. Foote C.A., Soares R.N., Ramirez-Perez F.I., Ghiorone T., Aroor A., Manrique-Acevedo C., Padilla J., Martinez-Lemus L. Endothelial Glycocalyx // *Comprehensive Physiology*. 2022. Vol. 12, Is. 4. P. 3781–3811. DOI: 10.1002/cphy.c210029.
21. Heldin P., Kolliopoulos C., Lin C.Y., Heldin C.H. Involvement of hyaluronan and CD44 in cancer and viral infections // *Cellular Signalling*. 2020. Vol. 65. P. 109427. DOI: 10.1016/j.cellsig.2019.109427.
22. Isacke C.M., Yarwood H. The hyaluronan receptor, CD44 // *The International Journal of Biochemistry Cell Biology*. 2002. Vol. 34, Is. 7. P. 718–721. DOI: 10.1016/s1357-2725(01)00166-2.

23. Broekhuizen L.N., Mooij H.L., Kastelein J.J., Stroes E.S., Vink H., Nieuwdorp M. Endothelial glycocalyx as potential diagnostic and therapeutic target in cardiovascular disease // *Current Opinion in Lipidology*. 2009. Vol. 20, Is. 1. P. 57–62. DOI: 10.1097/MOL.0b013e328321b587.
24. Uchimido R., Schmidt E.P., Shapiro N.I. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis // *Critical Care*. 2019. Vol. 23, Is. 1. P. 16. DOI: 10.1186/s13054-018-2292-6.
25. Lipphardt M., Song J.W., Goligorsky M.S. Sirtuin 1 and endothelial glycocalyx // *Pflügers Archiv*. 2020. Vol. 472, Is. 8. P. 991–1002. DOI: 10.1007/s00424-020-02407-z.
26. Goligorsky M.S., Sun D. Glycocalyx in Endotoxemia and Sepsis // *The American Journal of Pathology*. 2020. Vol. 190, Is. 4. P. 791–798. DOI: 10.1016/j.ajpath.2019.06.017.
27. Sallee C., Hippensteel J.A., Miller K.R., Oshima K., Pham A.T., Richter R.P., Belperio J., Sierra Y.L., Schwingshackl A., Mourani P.M., Schmidt E.P., Sapru A., Maddux A.B. Endothelial Glycocalyx Degradation Patterns in Sepsis-Associated Pediatric Acute Respiratory Distress Syndrome: A Single Center Retrospective Observational Study // *Journal of Intensive Care Medicine*. 2024. Vol. 39, Is. 3. P. 277–287. DOI: 10.1177/08850666231200162.
28. Iba T., Levy J.H. Derangement of the endothelial glycocalyx in sepsis // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2019. Vol. 17, Is. 2. P. 283–294. DOI: 10.1111/jth.14371.
29. Sinova R., Zadnicova P., Safrankova B., Nesporova K. Anti-HA antibody does not detect hyaluronan // *Glycobiology*. 2021. Vol. 31, Is. 5. P. 520–523. DOI: 10.1093/glycob/cwaa118.
30. Yamada S., Mizumoto S., Itano N. Application of anti-glycosaminoglycan antibody and biotinylated hyaluronan binding protein (bHABP) [5] ~ enzyme-linked immunosorbent assay for hyaluronan quantification. *Glycoscience Protocols (GlycoPODv2)*. 2021. [Electronic resource]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK593886/> (date of access: 23.06.2024).
31. Fosang A.J., Hey N.J., Carney S.L., Hardingham T.E. An ELISA plate-based assay for hyaluronan using biotinylated proteoglycan G1 domain (HA-binding region) // *Matrix*. 1990. Vol. 10, Is. 5. P. 306–313. DOI: 10.1016/s0934-8832(11)80186-1.
32. Barrueta Tenhunen A., van der Heijden J., Dogné S., Flamion B., Weigl W., Frithiof R., Skorup P., Larsson A., Larsson A., Tenhunen J. High-molecular-weight hyaluronan—a potential adjuvant to fluid resuscitation in abdominal sepsis? // *Shock*. 2023. Vol. 59, Is. 5. P. 763–770. DOI: 10.1097/SHK.0000000000002089.
33. Lee H.G., Cowman M.K. An agarose gel electrophoretic method for analysis of hyaluronan molecular weight distribution // *Analytical Biochemistry*. 1994. Vol. 219, Is. 2. P. 278–287. DOI: 10.1006/abio.1994.1267.
34. Heldin P., Lin C.Y., Kolliopoulos C., Chen Y.H., Skandalis S.S. Regulation of hyaluronan biosynthesis and clinical impact of excessive hyaluronan production // *Matrix Biology*. 2019. Vol. 78–79. P. 100–117. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.01.017.
35. Spicer A.P., McDonald J.A. Characterization and molecular evolution of a vertebrate hyaluronan synthase gene family // *The Journal of Biological Chemistry*. 1998. Vol. 273, Is. 4. P. 1923–1932. DOI: 10.1074/jbc.273.4.1923.
36. Schmidt E.P., Overdier K.H., Sun X., Lin L., Liu X., Yang Y., Ammons L.A., Hiller T.D., Suflita M.A., Yu Y., Chen Y., Zhang F., Burlew C.C., Edelstein C.L., Douglas I.S., Linhardt R.J. Urinary Glycosaminoglycans Predict Outcomes in Septic Shock and Acute Respiratory Distress Syndrome // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2016. Vol. 194, Is. 4. P. 439–449. DOI: 10.1164/rccm.201511-2281OC.
37. Liu Y.Y., Lee C.H., Dedaj R., Zhao H., Mrabat H., Sheidlin A., Syrkina O., Huang P.M., Garg H.G., Hales C.A., Quinn D.A. High-molecular-weight hyaluronan—a possible new treatment for sepsis-induced lung injury: a preclinical study in mechanically ventilated rats // *Critical Care*. 2008. Vol. 12, Is. 4. P. R102. DOI: 10.1186/cc6982.
38. Anand D., Ray S., Srivastava L.M., Bhargava S. Evolution of serum hyaluronan and syndecan levels in prognosis of sepsis patients // *Clinical Biochemistry*. 2016. Vol. 49, Is. 10–11. P. 768–776. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2016.02.014.
39. Monslow J., Williams J.D., Guy C.A., Price I.K., Craig K.J., Williams H.J., Williams N.M., Martin J., Coleman S.L., Topley N., Spicer A.P., Buckland P.R., Davies M., Bowen T. Identification and analysis of the promoter region of the human hyaluronan synthase 2 gene // *The Journal of Biological Chemistry*. 2004. Vol. 279, Is. 20. P. 20576–20581. DOI: 10.1074/jbc.M312666200.
40. Mrabat H., Beagle J., Hang Z., Garg H.G., Hales C.A., Quinn D.A. Inhibition of HA synthase 3 mRNA expression, with a phosphodiesterase 3 inhibitor, blocks lung injury in a septic ventilated rat model // *Lung*. 2009. P. 187, Is. 4. P. 233–239. DOI: 10.1007/s00408-009-9157-3.
41. Laurent T.C., Fraser J.R. Hyaluronan // *FASEB Journal*. 1992. Vol. 6, Is. 7. P. 2397–2404.
42. Ballermann B.J., Nystrom J., Haraldsson B. The Glomerular Endothelium Restricts Albumin Filtration // *Frontiers in Medicine (Lausanne)*. 2021. No. 8. P. 766689. DOI: 10.3389/fmed.2021.766689.