

**ОБЗОР БИМЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ
КОМПОЗИТНЫХ МАТРИКСОВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА****Халимов Р.И., Омелько Н.А.***Алтайский государственный университет, Барнаул,**e-mail: asu.nii@mail.ru, omelkokola@mail.ru*

В этом обзоре рассматривается влияние функционализации структурными белками организма животных и человека, а именно кератина, эластина и ламинина, на свойства хитозановых биокomпозитных каркасов (скаффолдов, от англ. scaffold), применяемых в биомедицине. Описаны результаты экспериментов с применением вышеуказанных структурных белков в исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Рассмотрены работы посвященные применению биокomпозитов в качестве ранозаживляющих материалов, которые влияли на адгезию и пролиферацию фибробластов. Помимо этого, также рассмотрены исследования влияния подобных материалов на регенерацию нервной и хрящевой тканей, а также на ткань роговицы и культуры стволовых клеток. Также данный обзор описывает научные исследования биокomпозитов на основе хитозана и матригеля, который является внеклеточным матриксом опухолевого происхождения и активно используется в экспериментах. Описаны эксперименты по созданию многокомпонентного раневого покрытия и результаты испытания его биологической активности *in vitro* и *in vivo*. Также рассмотрены материалы с аналогичным составом для применения в тканевой инженерии хряща и в качестве материала для биопечати. В заключение дано описание перспектив применения биокomпозитных материалов на основе хитозана в регенеративной медицине.

Ключевые слова: хитозан, структурные белки, биокomпозит, скаффолд, регенеративная медицина

**REVIEW OF BIOMEDICAL APPLICATION
OF CHITOSAN-BASED COMPOSITE MATRICES****Khalimov R.I., Omelko N.A.***Altai State University, Barnaul, e-mail: asu.nii@mail.ru, omelkokola@mail.ru*

This review considers influence of functionalization with animal and human organism structural proteins, namely keratin, elastin and laminin, on the properties of biocomposite chitosan scaffolds that are used in the biomedicine. Described are the results of the experiments using aforementioned structural proteins in studies *in vitro* and *in vivo*. Reviewed works were devoted to usage of biocomposites as wound healing materials, which affected adhesion and proliferation of fibroblasts. Additionally, studies of the effects of such materials on regeneration of neural and cartilage tissues, as well as on cornea tissue and stem cells is also examined. This review also describes scientific research of biocomposites based on chitosan and matrigel, which is extracellular matrix of tumor origin and is used extensively in experimentations. Experiments on creating multi-component wound dressing and results of its biological activity testing *in vitro* and *in vivo* are described. Material with similar composition for application in cartilage tissue engineering and as a bioprinting material are also described. In conclusion is given a description of perspectives of using biocomposite materials based on chitosan in regenerative medicine.

Keywords: chitosan, structural proteins, biocomposite, scaffold, regenerative medicine

Применение биосовместимых и биоразлагаемых материалов в медицине обуславливает новые требования к таковым. Разработка новых способов использования биополимеров формирует потребность в материалах, которые бы четко соответствовали запросам специалистов каждой области медицины, а также давали возможность точной настройки их свойств для адаптации к нуждам отдельных пациентов. Одним из подобных материалов, не первое десятилетие привлекающим внимание исследователей, является хитозан. На основе хитозана создаются многочисленные композитные и биокomпозитные материалы, включающие биологические, синтетические и минеральные соединения. За счет этого возможно получение продуктов, обладающих широким спектром свойств и пригодных, в том числе, для медицинского применения.

Цель работы – рассмотрение способов функционализации продуктов на основе хитозана для использования в медицине. При этом акцент будет сделан на использование биокomпозитных материалов, содержащих сочетание хитозана и структурных белков организма животных и человека.

Хитозан-ламинин

Одной из добавок к хитозану являются ламинин или полученные из него пептиды. Ламинин – гликопротеин внеклеточного матрикса, содержащийся в организме всех животных. Семейство ламининов составляет основу состава базальной ламины и играет ключевую роль в ее биологической активности, включая обеспечение адгезии, миграции и дифференциации клеток. Это делает ламинин неотъемлемой частью структурных компонентов органов

и тканей, жизненно необходимой для осуществления их функций. В организме человека ламинины образуют независимые от коллагенового каркаса структуры, однако ассоциированы с коллагеном IV типа за счет вспомогательных белков и гликопротеидов. Также посредством взаимодействия с такими мембранными белками, как интегрины, ламинины связываются с клеточной мембраной, что и обуславливает их роль в регуляции взаимодействия клеток с внеклеточным матриксом. Присутствие ламининов является важным условием протекания ряда клеточных процессов *in vitro* и *in vivo*, и введение ламининов в искусственные биокомпозитные скаффолды значительно изменяет их биологические свойства. Хитозановые мембраны, модифицированные ламинином, используются в основном для регенерации нервной ткани и заживления ран [1-3]. Добавление ламинина или его пептидов увеличивает рост аксонов в культуре клеток PC12 [4]. Кроме того, оно повышает адгезию и миграцию фибробластов, а также кератиноцитов кожи человека [4, 5].

Так, Mochizuki и соавторы демонстрируют, что добавление к хитозановым мембранам четырех биологически активных пептидов на основе ламинина способствовало улучшению адгезии фибробластов человека. Три из изученных данным коллективом пептидов также способствовали активному прикреплению клеток HT-1080 к модифицированному матриксу. Также данные пептиды, по данным авторов, увеличивают рост аксонов в опыте с клетками PC12 [6]. Сходные данные о продуктах на основе хитозана и ламинина были также получены другими коллективами авторов [7, 8].

Помимо этого, также известно, что ламинин способствует пролиферации стволовых клеток костного мозга [9]. Одним из традиционных подходов к стимуляции заживления ран является использование стволовых клеток костного мозга или продуктов их жизнедеятельности, что указывает на потенциальную ранозаживляющую активность хитозан-ламининовых мембран.

Также ламинин добавляют в коллаген-хитозановые каркасы. Подобные композитные продукты могут применяться в тканевой инженерии кожи, позволяя достичь улучшенной иннервации образующихся тканей *in vivo* [10]. В свою очередь, McEwan и соавторы исследовали возможность использования композитных матриксов ламинин-коллаген-хитозан для создания химерной инсулин-продуцирующей ткани *in vitro*. Данным коллективом был сделан вывод, что добавление ламинина в гидрогели способствует кратковременной выживае-

мости клеток САС (циркулирующие ангиогенные клетки). Это возможно из-за того, что RGD-пептид ламинина создает место для прикрепления клеток САС, улучшая их жизнеспособность и, тем самым, способность тканеинженерного тканеинженерного конструкта к ангиогенезу [11].

В тканевой инженерии активно применяются композитные материалы из углеродных (карбоновых) нанотрубок с хитозаном [12, 13, 14]. Ламинин находит свое применение и в таких продуктах. Добавление ламинина приводило к улучшению адгезии клеток и роста аксонов [15, 16].

Хитозан-кератин

Кератин – представитель класса фибриллярных белков, являющийся основным компонентом волос, ногтей, перьев, чешуек и роговых образований, а также внешнего слоя кожи у позвоночных. Кератин крайне слабо растворим в воде и органических растворителях и придает высококератинизированным тканям значительную твердость. Кератин с успехом используется в качестве добавки к различным хитозановым изделиям для регенеративной медицины. Добавление кератина к хитозану улучшает как физические свойства продукта, так и биосовместимость. Из хитозана и кератина изготавливают нетканые перевязочные материалы, нановолокна, композитные материалы и микрокапсулы [17, 18, 19].

Islam и соавторы предлагают создание нановолоконного каркаса из поливинилового спирта, кератина и хитозана. Данный каркас был изготовлен путем электроспиннинга. Было выявлено, что включение кератина приводило к увеличению биodeградации. Также было доказано что при увеличении доли хитозана и кератина в смеси увеличивалось набухание каркасов [18].

Deng и соавторы предлагают создание шовных материалов из поликапролактона и полиэтиленгликоля с добавлением хитозана и кератина методом экструзии горячего расплава. В данном исследовании были доказаны отсутствие цитотоксичности и увеличение пролиферации клеток HaCat на данных волокнах. Добавление хитозана и кератина способствовало увеличению прочности волокна на разрыв [20].

Другое направление применения хитозана и кератина – это создание каркасов из нановолокна [21, 22]. Так, Singaravelu и соавторы предлагают создание методом электроспиннинга двухслойного каркаса, первый слой которого состоит из поли-3-гидроксимасляной кислоты и желатина, а второй слой – из кератина и хитозана. Данный каркас продемонстрировал увели-

чение адгезии и пролиферации клеток NIH 3T3 и HaCaT, а также сохранение ими высокой жизнеспособности. Аминокислотные последовательности, характерные для кератина (RGD (Arg-Gly-Asp), LDV (Leu-Asp-Val)), способствуют более легкой клеточной адгезии и пролиферации [23].

Помимо волокон, кератин-хитозановые композиты могут использоваться для получения и других видов продуктов [24, 25]. Так, Lin и соавторы утверждают, что добавление кератина к хитозану увеличивает адгезию, пролиферацию и миграцию клеток L929. Хитозан, в свою очередь, влияет на физические свойства каркасов, улучшая механическую прочность. Все это указывает на то, что данный материал может использоваться для изготовления раневых покрытий [26].

Кроме применения в лечении ран, хитозан-кератиновые пленчатые каркасы используются в тканевой инженерии роговицы человека [27, 28]. Потенциал применения кератин-хитозановых пленок подтверждается ранними успехами, достигнутыми при культивировании клеток роговицы на хитозановых и кератиновых матриксах по отдельности [29, 30]. Также подобные биокомпозиты были применены для восстановления периферических нервов и в качестве буккального мукоадгезивного пластыря для лечения гингивита [31, 32]. Следует отметить, однако, что данные направления исследования подкреплены крайне малым количеством опубликованных экспериментальных данных.

Хитозан-Матригель

Матригель представляет собой имитацию базальной мембраны или внеклеточного матрикса, секретируемую клетками саркомы мыши Engelbreth-Holm-Swarm (EHS), производимую Corning Life Sciences. Из-за своих свойств матригель находит широкое применение в биоинженерии. Ряд авторов предлагают создание различных продуктов из хитозана совместно с матригелем. Матригель и его аналоги применяются как самостоятельные добавки, используемые для выращивания высокочувствительных культур клеток [33, 34, 35].

Так, Хуе и соавторы предлагают создание перевязочного материала из хитозана, матригеля и полиакриламида. Перевязочный материал демонстрирует высокую степень набухания, хорошую адгезию и низкую цитотоксичность по отношению к фибробластам L929, также он улучшает заживление ран за счет повышения экспрессии противовоспалительных и снижения экспрессии провоспалительных факторов [36].

Другие же авторы предлагают создание каркаса из хитозана и матригеля. Повышение концентрации хитозана в подобных каркасах увеличивает упругость, но клетки проявляют меньшую хондрогенную активность. Добавление матригеля позволяет сохранить хондрогенную активность и дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток костного мозга [37].

Помимо этого, хитозан и матригель используются в биопечати. Так, Liu и соавторы предлагают создание биочернил из хитозана, производных гиалуроновой кислоты и матригеля. Данные биочернила демонстрируют быстрое гелеобразование в течение 20 секунд. Каркасы, созданные из таких биочернил, поддерживают высокую жизнеспособность стволовых клеток нервной ткани NSC и создают благоприятную микросреду, которая увеличивает дифференцировку нейронов. Эксперименты *in vivo* продемонстрировали способность подобных каркасов стимулировать регенерацию аксонов и снижать глиальное рубцевание [38].

Вопрос о совместном применении хитозана и матригеля изучен очень слабо. Но применение матригеля отдельно от хитозана широко изучено. Так, ряд авторов предлагают применение матригеля с коллагеном [39, 40]. Добавление матригеля к коллагеновому гелю улучшает механическую стабильность каркаса. В таких условиях клетки проявляют сопоставимую с чистыми коллагеновыми гелями жизнеспособность и пролиферацию [41].

Хитозан-Эластин

Эластин представляет собой белок соединительной ткани. В организме млекопитающих эластин синтезируется фибробластами и находится в межклеточном веществе соединительной ткани. Эластин помогает органам и тканям поддерживать форму. Из-за своих свойств эластин нашел применение в регенеративной медицине, в том числе в составе хитозан-эластиновых композитов [42, 43].

Добавление эластина к хитозану улучшает механическую прочность и ударную вязкость [44]. Продукты из хитозан-эластина применяются для инженерии хрящевой ткани. Так, Куо и соавторы предлагают создание каркаса из хитозана и поли- γ -глутаминовой кислоты методом сшивания генипином с последующей лиофилизацией. Поверхность каркасов дополнительно модифицировали альбумином плазмы человека, эластином и поли-L-лизинном в различных сочетаниях. Модификация каркасов повышала по сравнению

с необработанными матриксами адгезию и пролиферацию бычьих хондроцитов, а также секрецию ими молекул межклеточного матрикса (гликозаминогликана и коллагена II типа) [45].

Помимо этого, хитозан-эластиновые биокаркасы используются в инженерии тканевой кожи. Так, Zehra и соавторы предлагают создание каркасов из хитозана, альгината натрия и эластина с добавлением нестероидного противовоспалительного средства. Полученные каркасы обладали удовлетворительными физическими свойствами – пористостью, водопоглощением и скоростью деградации, необходимыми для инфильтрации клеток в каркас, а также для поглощения раневого экссудата. Исследования *in vitro* также указывают на то, что данные каркасы не цитотоксичны стволовых клеток жировой ткани (ASC) и обеспечивают условия для адгезии и миграции данных клеток в поры [46].

Следует отметить, что применение эластина совместно с хитозаном изучено мало. Это может быть связано с тем, что продукты на основе хитозан-эластина не обладают свойствами, которыми бы не обладали продукты на основе композитов хитозана с другими, более доступными для изучения белками.

Заключение

Хитозан активно изучается учеными в различных направлениях. Одним из направлений является применение хитозана в регенеративной медицине в качестве полимера для создания клеточных каркасов. Однако свойств одного лишь хитозана без добавок часто недостаточно для достижения желаемого эффекта. Использование различных добавок к хитозану позволяет расширить спектр его применения – от использования в регенеративной медицине до изготовления упаковочного материала. Исследователи активно ищут полимеры, которые могли бы улучшать свойства хитозана. Так, ведется множество исследований в области добавления в хитозановые каркасы различных биополимеров, в том числе и структурных белков. В данном обзоре были рассмотрены композиты с добавлением ламинина, кератина и эластина, а также композиты хитозана с матригелем.

Биодеградируемые композитные материалы являются перспективным объектом исследований в области тканевой инженерии и регенеративной медицины, при этом включение структурных белков может открывать для них новые области биомедицинского применения, не достижимые композициями с другим составом.

Работа выполнена в рамках гранта Губернатора Алтайского края в форме субсидий для разработки качественно новых технологий, создания инновационных продуктов и услуг в сферах переработки и производства пищевых продуктов, фармацевтического производства и биотехнологий в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации по теме «Разработка технологии получения биологически активного культурального клеточного матрикса» (соглашение № 5 от 12 апреля 2022 года).

Партнер проекта – ООО Диаэм.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Amr S.M., Gouda A., Koptan W.T., Galal A.A., Abdel-Fattah D.S., Rashed L.A., Atta H.M., Abdel-Aziz M.T. Bridging defects in chronic spinal cord injury using peripheral nerve grafts combined with a chitosan-laminin scaffold and enhancing regeneration through them by co-transplantation with bone-marrow-derived mesenchymal stem cells: case series of 14 patients. The journal of spinal cord medicine. 2014. Т. 37. №. 1. С. 54-71. DOI: 10.1179/2045772312Y.0000000069.
2. Huang Y.C., Huang C.C., Huang Y.Y., Chen K.S. Surface modification and characterization of chitosan or PLGA membrane with laminin by chemical and oxygen plasma treatment for neural regeneration. Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials. 2007. Т. 82. №. 4. С. 842-851. DOI: 10.1002/jbm.a.31036.
3. Deng X., Gould M., Ali M. A review of current advancements for wound healing: Biomaterial applications and medical devices. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials. 2022. DOI: 10.1002/jbm.b.35086.
4. Hozumi K., Otagiri D., Yamada Y., Sasaki A., Fujimori C., Wakai Y., Uchida T., Katagiri F., Kikkawa Y., Nomizu M. Cell surface receptor-specific scaffold requirements for adhesion to laminin-derived peptide-chitosan membranes. Biomaterials. 2010. Т. 31. №. 12. С. 3237-3243. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.043.
5. Ikemoto S., Mochizuki M., Yamada M., Takeda A., Uchinuma E., Yamashina S., Nomizu M., Kadoya Y. Laminin peptide-conjugated chitosan membrane: Application for keratinocyte delivery in wounded skin. Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials. 2006. Т. 79. №. 3. С. 716-722. DOI: 10.1002/jbm.a.30804.
6. Mochizuki M., Kadoya Y., Wakabayashi Y., Kato K., Okazaki I., Yamada M., Sato T., Sakairi N., Nishi N., Nomizu M. Laminin-1 peptide-conjugated chitosan membranes as a novel approach for cell engineering. The FASEB journal. 2003. Т. 17. №. 8. С. 1-20. DOI: 10.1096/fj.02-0564fje.
7. Hsu S.H., Kuo W.C., Chen Y.T., Yen C.T., Chen Y.F., Chen K.S., Huang W.C., Cheng H. New nerve regeneration strategy combining laminin-coated chitosan conduits and stem cell therapy. Acta Biomaterialia. 2013. Т. 9. №. 5. С. 6606-6615. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.01.025.
8. Hozumi K., Sasaki A., Yamada Y., Otagiri D., Kobayashi K., Fujimori C., Katagiri F., Kikkawa Y., Nomizu M. Reconstitution of laminin-111 biological activity using multiple peptide coupled to chitosan scaffolds. Biomaterials. 2012. Т. 33. №. 17. С. 4241-4250. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.02.055.

9. Chen S., Zhang M., Shao X., Wang X., Zhang L., Xu P., Zhong W., Zhang L., Xing M., Zhang L. A laminin mimetic peptide SIKVAV-conjugated chitosan hydrogel promoting wound healing by enhancing angiogenesis, re-epithelialization and collagen deposition. *Journal of Materials Chemistry B*. 2015. T. 3. №. 33. C. 6798-6804. DOI: 10.1039/c5tb00842e.
10. Caissie R., Gingras M., Champigny M.F., Berthod F. In vivo enhancement of sensory perception recovery in a tissue-engineered skin enriched with laminin. *Biomaterials*. 2006. T. 27. №. 15. C. 2988-2993. DOI:10.1016/j.biomaterials.2006.01.014.
11. McEwan K., Padavan D.T., Ellis C., McBane J.E., Vulesevic B., Korburt G.S., Suuronen E.J. Collagen-chitosan-laminin hydrogels for the delivery of insulin-producing tissue. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2016. T. 10. №. 10. C. E397-E408. DOI: 10.1002/term.1829.
12. Kroustalli A., Zisimopoulou A.E., Koch S., Rongen L., Deligianni D., Diamantouros S., Athanassiou G., Kokozidou M., Mavrilas D., Jockenhoevel S. Carbon nanotubes reinforced chitosan films: mechanical properties and cell response of a novel biomaterial for cardiovascular tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2013. T. 24. №. 12. C. 2889-2896. DOI: 10.1007/s10856-013-5029-8.
13. Ilbasimis-Tamer S., Ciftci H., Turk M., Degim T., Tamer U. Multiwalled carbon nanotube-chitosan scaffold: cytotoxic, apoptotic, and necrotic effects on chondrocyte cell lines. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2017. T. 18. №. 4. C. 327-335. DOI: 10.2174/1389201018666170127105555.
14. Grande Tovar C.D., Castro J.L., Valencia C.H., Navia Porras D.P., Herminsul Mina Hernandez J., Valencia Zapata M.E., Chaur M.N. Nanocomposite films of chitosan-grafted carbon nano-onions for biomedical applications. *Molecules*. 2020. T. 25. №. 5. C. 1203. DOI: 10.3390/molecules25051203.
15. Huang Y.C., Hsu S.H., Kuo W.C., Chang-Chien C.L., Cheng H., Huang Y.Y. Effects of laminin-coated carbon nanotube/chitosan fibers on guided neurite growth. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2011. T. 99. №. 1. C. 86-93. DOI: 10.1002/jbm.a.33164.
16. Itoh S., Yamaguchi I., Suzuki M., Ichinose S., Takakuda K., Kobayashi H., Shinomiya K., Tanaka J. Hydroxyapatite-coated tendon chitosan tubes with adsorbed laminin peptides facilitate nerve regeneration in vivo. *Brain research*. 2003. T. 993. №. 1-2. C. 111-123. DOI: 10.1016/j.brainres.2003.09.003.
17. Shanmugasundaram O.L., Syed Zameer Ahmed K., Sujatha K., Ponnmurugan P., Srivastava A., Ramesh R., Sukumar R., Elanithi K. Fabrication and characterization of chicken feather keratin/polysaccharides blended polymer coated nonwoven dressing materials for wound healing applications. *Materials Science and Engineering: C*. 2018. T. 92. C. 26-33. DOI: 10.1016/j.msec.2018.06.020.
18. Islam M.T., Laing R.M., Wilson C.A., McConnell M., Ali M.A. Fabrication and characterization of 3-dimensional electrospun poly (vinyl alcohol)/keratin/chitosan nanofibrous scaffold. *Carbohydrate Polymers*. 2022. T. 275. C. 118682. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.118682.
19. Wilson A., Ekanem E.E., Mattia D., Edler K.J., Scott J.L. Keratin-chitosan microcapsules via membrane emulsification and interfacial complexation. *ACS sustainable chemistry & engineering*. 2021. T. 9. №. 49. C. 16617-16626. DOI: 10.1021/acssuschemeng.1c05304.
20. Deng X., Gould M., Ali M.A. Fabrication and characterization of melt-extruded chitosan/keratin/PCL/PEG drug-eluting sutures designed for wound healing. *Materials Science and Engineering: C*. 2021. T. 120. C. 111696. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111696.
21. Ranjbar-Mohammadi M., Shakoobi P., Arab-Bafrani Z. Design and characterization of keratin/PVA-PLA nanofibers containing hybrids of nanofibrillated chitosan/ZnO nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021. T. 187. C. 554-565. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.07.160.
22. Kim J.W., Kim M.J., Ki C.S., Kim H.J., Park Y.H. Fabrication of bi-layer scaffold of keratin nanofiber and gelatin-methacrylate hydrogel: Implications for skin graft. *International journal of biological macromolecules*. 2017. T. 105. C. 541-548. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.07.067.
23. Singaravelu S., Ramanathan G., Muthukumar T., Raja M.D., Nagiah N., Thyagarajan S., Aravinthan A., Gunasekaran P., Natarajan T.S., Geetha Selva G., Kim J.H., Sivagnanam U.T. Durable keratin-based bilayered electrospun mats for wound closure. *Journal of Materials Chemistry B*. 2016. T. 4. №. 22. C. 3982-3997. DOI: 10.1039/c6tb00720a.
24. Tan H.B., Wang F.Y., Ding W., Zhang Y., Ding J., Cai D.X., Yu K.F., Yang J., Yang L., Xu Y.Q. Fabrication and evaluation of porous keratin/chitosan (KCS) scaffolds for effectively accelerating wound healing. *Biomedical and Environmental Sciences*. 2015. T. 28. №. 3. C. 178-189. DOI: 10.3967/bes2015.024.
25. Lin Y.H., Huang K.W., Chen S.Y., Cheng N.C., Yu J. Keratin/chitosan UV-crosslinked composites promote the osteogenic differentiation of human adipose derived stem cells. *Journal of Materials Chemistry B*. 2017. T. 5. №. 24. C. 4614-4622. DOI: 10.1039/c7tb00188f.
26. Lin C.W., Chen Y.K., Lu M., Lou K.L., Yu J. Photocrosslinked keratin/chitosan membranes as potential wound dressing materials. *Polymers*. 2018. T. 10. №. 9. C. 987. DOI: 10.3390/polym10090987.
27. Vázquez N., Chacón M., Meana Á., Menéndez-Menéndez Y., Ferrero-Gutierrez A., Cereijo-Martín D., Naveiras M., Merayo-Llodes J. Keratin-chitosan membranes as scaffold for tissue engineering of human cornea. *Histol Histopathol*. 2015. T. 30. №. 7. C. 813-821.
28. Grolík M., Kopeć M., Szczubiałka K., Wowra B., Dobrowolski D., Wylegała E., Nowakowska M. Regeneration of corneal epithelium using keratin modified chitosan membranes. *Przegląd Lekarski*. 2012. T. 69. №. 10. C. 992-997.
29. Builles N., Bechetoille N., Justin V., André V., Barbaro V., Di Iorio E., Auxenfans C., Hulmes D.J., Damour O. Development of a hemicornea from human primary cell cultures for pharmacotoxicology testing. *Cell Biology and Toxicology*. 2007. T. 23. №. 4. C. 279-292. DOI: 10.1007/s10565-006-0191-0.
30. Barbaro V., Ferrari S., Fasolo A., Ponzin D., Di Iorio E. Reconstruction of a human hemicornea through natural scaffolds compatible with the growth of corneal epithelial stem cells and stromal keratocytes. *Molecular Vision*. 2009. T. 15. C. 2084.
31. Carvalho C.R., Costa J.B., Costa L., Silva-Correia J., Moay Z.K., Ng K.W., Reis R.L., Oliveira J.M. Enhanced performance of chitosan/keratin membranes with potential application in peripheral nerve repair. *Biomaterials science*. 2019. T. 7. №. 12. C. 5451-5466. DOI: 10.1039/c9bm01098j.
32. Davoudi Z., Rabiee M., Houshmand B., Eslahi N., Khoshroo K., Rasouliaboroujeni M., Tahri M., Tayebi L. Development of chitosan/gelatin/keratin composite containing hydrocortisone sodium succinate as a buccal mucoadhesive patch to treat desquamative gingivitis. *Drug development and industrial pharmacy*. 2018. T. 44. №. 1. C. 40-55. DOI: 10.1080/03639045.2017.1371738.
33. Karahuseyinoglu S., Sekerdag E., Aria M.M., Cetin Tas Y., Nizamoglu S., Solaroglu I., Gürsoy-Özdemir Y. Three-dimensional neuron-astrocyte construction on matrigel enhances establishment of functional voltage-gated sodium channels // *Journal of Neurochemistry*. 2021. T. 156. №. 6. C. 848-866. DOI: 10.1111/jnc.15185.
34. Absalan F., Pasandi M.S., Ghasemi Hamidabadi H., Saeednia S., Bojnordi M.N., Zahiri M., Alizadeh R., Bagher Z. Matrigel enhances differentiation of human adipose tissue-derived stem cells into dopaminergic neuron. *Neuroscience Letters*. 2021. T. 760. C. 136070. DOI: 10.1016/j.neulet.2021.136070.
35. Josan C., Kakar S., Raha S. Matrigel® enhances 3T3-L1 cell differentiation. *Adipocyte*. 2021. T. 10. №. 1. C. 361-377. DOI: 10.1080/21623945.2021.1951985.
36. Xue H., Hu L., Xiong Y., Zhu X., Wei C., Cao F., Zhou W., Sun Y., Endo Y., Liu M., Liu Y., Liu J., Abududilbaier A., Chen L., Yan C., Mi B., Liu G. Quaternized chitosan-Matrigel-polyacryl-

- amide hydrogels as wound dressing for wound repair and regeneration. *Carbohydrate polymers*. 2019. T. 226. C. 115302. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115302.
37. Dai Yun H.J., Wu F. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells on matrigel/chitosan scaffolds. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*. 2015. T. 19. №. 10. C. 1506. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2015.10.006.
38. Liu X., Hao M., Chen Z., Zhang T., Huang J., Dai J., Zhang Z. 3D bioprinted neural tissue constructs for spinal cord injury repair. *Biomaterials*. 2021. T. 272. C. 120771. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.120771.
39. Anguiano M., Morales X., Castilla C., Pena A.R., Edererra C., Martínez M., Ariz M., Esparza M., Amaveda H., Mora M., Movilla N., Aznar J.M.G., Cortés-Domínguez I., Ortiz-de-Solorzano C. The use of mixed collagen-Matrigel matrices of increasing complexity recapitulates the biphasic role of cell adhesion in cancer cell migration: ECM sensing, remodeling and forces at the leading edge of cancer invasion. *PLoS One*. 2020. T. 15. №. 1. C. e0220019. DOI: 10.1371/journal.pone.0220019.
40. Bell E.M., Graves M.L., Dean P.M., Goodman T.O., Roskelley C.D. Modeling Collective Invasion and Single-Cell Mesenchymal Invasion in Three-Dimensional Matrigel–Collagen I Cultures. *Cancer Cell Biology. Humana*, New York, NY, 2022. C. 79-99.
41. Lam N.T., Lam H., Sturdivant N.M., Balachandran K. Fabrication of a matrigel–collagen semi-interpenetrating scaffold for use in dynamic valve interstitial cell culture. *Biomedical Materials*. 2017. T. 12. №. 4. C. 045013. DOI: 10.1088/1748-605X/aa71be.
42. Cao G., He W., Fan Y., Li X. Exploring the match between the degradation of the ECM-based composites and tissue remodeling in a full-thickness abdominal wall defect model. *Biomaterials Science*. 2021. T. 9. №. 23. C. 7895-7910. DOI: 10.1039/d1bm01096d.
43. Cao G., Wang C., Fan Y., Li X. Biomimetic SIS-based biocomposites with improved biodegradability, antibacterial activity and angiogenesis for abdominal wall repair. *Materials Science and Engineering: C*. 2020. T. 109. C. 110538. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110538.
44. Su H., Fujiwara T., Bumgardner J.D. A study of combining elastin in the chitosan electrospinning to increase the mechanical strength and bioactivity. *Marine drugs*. 2021. T. 19. №. 3. C. 169. DOI: 10.3390/md19030169.
45. Kuo Y.C., Ku H.F., Rajesh R. Chitosan/γ-poly (glutamic acid) scaffolds with surface-modified albumin, elastin and poly-L-lysine for cartilage tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*. 2017. T. 78. C. 265-277. DOI: 10.1016/j.msec.2017.04.067.
46. Zehra M., Mehmood A., Yar M., Shahzadi L., Riazuddin S. Development of NSAID-loaded nano-composite scaffolds for skin tissue engineering applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2020. T. 108. №. 8. C. 3064-3075.