

# ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННЫЙ ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ МАТРИКС ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ (ОБЗОР)

DOI: 10.17691/stm2022.14.3.07

УДК 576:004.891.3

Поступила 01.04.2022 г.



**Е.В. Исаева**, к.вет.н., старший научный сотрудник лаборатории биоматериалов и тканевых конструкций<sup>1</sup>;

**Е.Е. Бекетов**, к.б.н., зав. лабораторией биоматериалов и тканевых конструкций<sup>1</sup>;

**Н.В. Аргучинская**, младший научный сотрудник лаборатории биоматериалов и тканевых конструкций<sup>1</sup>;

**С.А. Иванов**, д.м.н., директор<sup>1</sup>; профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики<sup>2</sup>;

**П.В. Шегай**, к.м.н., зав. Центром инновационных радиологических и регенеративных технологий<sup>3</sup>;

**А.Д. Каприн**, д.м.н., профессор, академик РАН, генеральный директор<sup>3</sup>; зав. кафедрой урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии медицинского института<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, ул. Жукова, 10, Обнинск, 249036;

<sup>2</sup>Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, 117198;

<sup>3</sup>Национальный медицинский исследовательский центр радиологии Минздрава России, ул. Королева, 4, Обнинск, 249036

За последние годы децеллюляризованные ткани превратились в новую, полноценную платформу для создания тканеинженерных конструкций. Внеклеточный матрикс (ВКМ) каждой ткани создает уникальное тканеспецифическое микроокружение для резидентных клеток, обеспечивая их структурой и биохимическими сигналами, необходимыми для их функционирования. Установлено, что децеллюляризованный внеклеточный матрикс (дВКМ) оказывает влияние на дифференцировку клеток.

В обзоре приводятся данные о составе и функциях ВКМ, методах получения децеллюляризованных тканей и применении их в тканевой инженерии в зависимости от физической формы (каркас, порошок или гидрогель). Рассматривается влияние источника матрикса, способа децеллюляризации и стерилизации на состав дВКМ. Обсуждаются механизмы регуляции дифференцировки клеток внеклеточным матриксом. Приводятся различия в белковом составе нативных и децеллюляризованных материалов. Рассматривается применение дВКМ в составе биочернил для регенерации различных тканей с использованием технологий биопечати.

Делается вывод, что для успешного применения дВКМ в тканевой инженерии и регенеративной медицине необходимы постоянный и биологически приемлемый источник дВКМ, оптимизированные протоколы децеллюляризации тканей, улучшение механических свойств биочернил на основе дВКМ и предотвращение иммунологической реакции организма.

**Ключевые слова:** тканевая инженерия; децеллюляризованный внеклеточный матрикс; дВКМ; ремоделирование внеклеточного матрикса; децеллюляризация.

**Как цитировать:** Isaeva E.V., Beketov E.E., Arguchinskaya N.V., Ivanov S.A., Shegay P.V., Kaprin A.D. Decellularized extracellular matrix for tissue engineering (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2022; 14(3): 57, <https://doi.org/10.17691/stm2022.14.3.07>

**Для контактов:** Исаева Елена Васильевна, e-mail: kusimona@yandex.ru

## Decellularized Extracellular Matrix for Tissue Engineering (Review)

**E.V. Isaeva**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Biomaterials and Tissue Constructions<sup>1</sup>;  
**E.E. Beketov**, PhD, Head of the Laboratory of Biomaterials and Tissue Constructions<sup>1</sup>;  
**N.V. Arguchinskaya**, Junior Researcher, Laboratory of Biomaterials and Tissue Constructions<sup>1</sup>;  
**S.A. Ivanov**, MD, DSc, Director<sup>1</sup>; Professor, Department of Oncology and Radiology and Nuclear Medicine<sup>2</sup>;  
**P.V. Shegay**, MD, PhD, Head of the Center of Innovative Radiological and Regenerative Technologies<sup>3</sup>;  
**A.D. Kaprin**, MD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, General Director<sup>3</sup>;  
Head of the Department of Urology and Operative Nephrology with the Course of Oncurology  
of the Medical Institute<sup>2</sup>

<sup>1</sup>A. Tsyb Medical Radiological Research Centre — Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, 10 Zhukova St., Obninsk, 249036, Russia;

<sup>2</sup>Peoples' Friendship University of Russia, 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117198, Russia;

<sup>3</sup>National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, 4 Koroleva St., Obninsk, 249036, Russia

In recent years, decellularized tissues have evolved into a new, full-fledged platform for the creation of tissue-engineered constructions. Extracellular matrix (ECM) of each tissue provides a unique tissue-specific microenvironment for resident cells with the structure and biochemical signaling required for their functioning. The decellularized ECM (dECM) has been established to influence cell differentiation.

The review provides recent data on the composition and functions of the ECM, methods for obtaining decellularized tissues, and their application in tissue engineering depending on their physical form (scaffold, powder, or hydrogel). The effect of the matrix source, decellularization and sterilization techniques on dECM composition has been considered. Regulatory mechanisms of cell differentiation by the extracellular matrix are discussed. Differences in the protein composition of the native and decellularized materials are presented. Application of dECM in the bioink composition for regeneration of various tissues using bioprinting technologies is also considered.

It has been concluded that successful application of dECM in tissue engineering and regenerative medicine requires a permanent and biologically suitable dECM source, optimized tissue decellularization protocols, improved mechanical properties of dECM-derived bioinks, and prevention of immunological reaction of the organism.

**Key words:** tissue engineering; decellularized extracellular matrix; dECM; extracellular matrix remodeling; decellularization.

### Введение

За последние годы децеллюляризованные ткани и органы превратились в новую, полноценную платформу для создания тканеинженерных конструкций (ТИК) наряду с гидрогелями естественного и искусственного происхождения и биоинертными полимерами [1, 2]. Внеклеточный матрикс (ВКМ) — главный продукт децеллюляризации. Он может не только служить физическим каркасом, в который встраиваются клетки, но также способен регулировать многие клеточные процессы, включая рост, миграцию, дифференцировку, гомеостаз и морфогенез [3–6]. ВКМ каждой ткани создает уникальное тканеспецифическое микроокружение для резидентных клеток, обеспечивая их структурой и биохимическими сигналами, необходимыми для функционирования в рамках конкретной ткани [7]. Таким образом, мы вправе ожидать, что децеллюляризованные ткани должны оказывать определенное влияние на дифференцировку клеток в зависимости от того, из какой ткани был получен материал. Фактически применение децеллюляризованных тканей (точнее — дВКМ) может являться не столько узко-

специализированной методикой создания ТИК, сколько полноценным направлением медико-биологических исследований в области регенеративной медицины и тканевой инженерии для контроля поведения клеток и развития ТИК в полноценную ткань [2].

Несмотря на очевидные преимущества использования децеллюляризованного внеклеточного матрикса (дВКМ) в качестве основного материала или добавки к ТИК (скаффолдам), существует ряд препятствий, ограничивающих его применение: например, разная степень сохранения активных ингредиентов в децеллюляризованной ткани, а также при последующей обработке, стерилизации, консервировании и других процессах. Подробный механизм взаимодействия ВКМ и клеток *in vivo* в настоящее время не ясен. До сих пор не известен конкретный состав дВКМ, который способствует определенному поведению клеток, регенерации тканей и ангиогенезу, а соответствующие клеточные и молекулярные механизмы также заслуживают изучения, как и иммунное отторжение *in vivo* [8].

**Целью данного обзора** является систематизация сведений о составе и функциях дВКМ, влиянии его на

дифференцировку клеток, способах получения и применении в тканевой инженерии.

## Свойства внеклеточного матрикса

### Состав и функции

Все ткани и органы содержат клетки и неклеточные компоненты, которые образуют хорошо организованные сети — ВКМ. ВКМ состоит из большого количества матричных макромолекул, точный состав и конкретная структура которых меняются от ткани к ткани. У млекопитающих ВКМ состоит из примерно 300 белков, известных как основная матрисомма [9]. Базовыми составляющими ВКМ являются белки с волокнистой структурой, такие как коллагены, эластин, фибронектин, ламинины, гликопротеины, протеогликаны и гликозаминогликаны (ГАГ), которые представляют собой кислые гидратированные молекулы.

В зависимости от ткани (органа) разные типы коллагена присутствуют в разных пропорциях [10]. В большинстве тканей коллагены I и II типов являются основными составляющими ВКМ. Они связаны с другими коллагенами, а также с белками ВКМ и протеогликанами, образуя большие фибриллярные структуры. Эти многомолекулярные структуры, заполняя пространство между клетками, создают сложную трехмерную матричную сеть [6]. Тканеспецифические сети модулируют миграцию клеток и передачу биомеханических сил [11]. Коллагеновые фибриллы придают ВКМ прочность на разрыв и ограничивают растяжимость тканей. Н.Т. Aiyelabegan и E. Sadroddiny [12] сообщают, что из состава ВКМ проистекают и другие его физические характеристики, такие как местоположение, нерастворимость, жесткость и пористость, которые определяют механическое поведение каждой ткани, равно как и клеток в ее составе.

Протеогликаны (подкласс гликопротеинов), такие как агрекан, версикан, перлекан и декорин, представляют собой сердцевидные белки с присоединенными боковыми цепями ГАГ, которые рассредоточены среди коллагеновых фибрилл. Протеогликаны заполняют межклеточное интерстициальное пространство и обеспечивают функции гидратации, связывая воду внутри ткани. ГАГ, особенно сульфаты гепарина, также связывают многие факторы роста, изолируя их в ВКМ. Другие гликопротеины, такие как ламинины, эластин, фибронектины, тромбоспондины, тенасцины и нидоген, выполняют разнообразные функции. Эластин является ключевой молекулой эластичности ткани; ламинины — основной компонент базальной мембраны; фибронектин — гликопротеин, выполняющий сразу несколько функций: клеточную адгезию, миграцию, рост и дифференцировку [10]. Помимо своей роли в сборке ВКМ гликопротеины также участвуют во взаимодействии ВКМ–клетка, действуя как лиганды для рецепторов клеточной поверхности, таких как интегрины. В целом гликопротеины выступают как резервуар

факторов роста, которые связаны с ВКМ и способны высвободиться после протеолиза. При этом в ходе расщепления гликопротеинов могут образовываться фрагменты с функциями, отличными от функций исходного полноразмерного белка [13].

В работах [14, 15] показано, что ВКМ играет важную роль в развитии плода и определении дальнейшей судьбы стволовых клеток-предшественников, а также влияет на форму, выживаемость и пролиферацию клеток. Функциональное значение ВКМ иллюстрируется широким спектром тканевых дефектов или, в тяжелых случаях, эмбриональной летальностью, вызванной мутациями в генах, которые кодируют компоненты ВКМ. Исследования потери функции также показали важность белков ВКМ в процессах развития, поскольку делеции в генах некоторых белков ВКМ, таких как фибронектин и коллагены, часто приводят к летальному исходу для эмбрионов [16].

A.D. Theocharis с соавт. [17] приводят данные о делении ВКМ на два основных типа, которые различаются по составу и структуре: интерстициальный и перичеллюлярный. Интерстициальный, или межклеточный, матрикс окружает клетки, тогда как перичеллюлярный находится с ними в тесном контакте. К последнему типу матрикса относится, например, базальная мембрана, находящаяся на границе раздела между паренхимой и соединительной тканью, которая обеспечивает анкерный пластинчатый слой для паренхимных клеток, чтобы они удерживались вместе, предотвращая их разрыв. Базальные мембраны состоят из четырех основных компонентов: коллагена IV типа, ламинина, нидогена/энтактина и перлекана [18]. Клетки, встроенные в ВКМ, взаимодействуют с этой макромолекулярной сетью через свои поверхностные рецепторы, такие как интегрины, рецепторы дискоидиновых доменов, протеогликаны на клеточной поверхности и рецепторы гиалуроновой кислоты CD44. Все типы клеток (фибробласты, эпителиальные, иммунные и эндотелиальные) синтезируют и секретируют макромолекулы матрикса под контролем множества сигналов, таким образом участвуя в образовании ВКМ. Различные факторы роста, цитокины и хемокины, секретируемые лектины С-типа, галектины, семафорины, плексины и ферменты, модифицирующие ВКМ, которые участвуют в сшивании (например, трансглутаминаза, лизилоксидаза и гидроксилаза), не являясь частью матрисоммы, важны при ремоделировании ВКМ [13]. Они накапливаются в матриксе посредством связывания с конкретными молекулами и могут высвободиться и действовать на определенных этапах физиологического развития [16, 19].

Установлено, что ВКМ имеет решающее значение для нормального гомеостаза [14], а его ремоделирование определяет регуляцию морфогенеза кишечника и легких, молочных и слюнных желез [13, 20]. Нарушение регуляции состава, структуры, жесткости и количества ВКМ, а также процессов ремоделирования связано с патологическими состояниями

и может усугубить прогрессирование заболевания. Например, аномальное отложение и жесткость ВКМ наблюдаются при фиброзе и раке [4], а чрезмерная деградация сопряжена с остеоартритом [21]. ВКМ заметно видоизменяется при таких патологиях, как атеросклероз, аутоиммунные и воспалительные заболевания. К болезням подобного рода относится и дистрофический буллезный эпидермолиз — генетически детерминированное заболевание кожи, вызванное нарушением нормального функционирования коллагена VII типа [22]. В настоящее время считается, что микросреда, в которой прогрессируют заболевания, не менее важна, чем популяции клеток, участвующие в развитии патологических состояний [17]. Подробно структура, взаимодействие и функции компонентов ВКМ изложены в работах [14, 17, 20].

### **Влияние внеклеточного матрикса на дифференцировку клеток**

Доказано, что децеллюляризованные материалы оказывают влияние на дифференцировку клеток. На сегодняшний день легкие, печень, почки, сердце, центральная нервная система, жировая ткань, сухожилия, мышцы, хрящи и другие децеллюляризованные ткани показали признаки положительного влияния на дифференцировку клеток в лабораторных условиях [2]. Исследованы возможные механизмы этого процесса [2, 23–26]. Так, в работе H. Ragelle с соавт. [27] показано, что каждая ткань имеет уникальный состав ВКМ, от которого зависит способ дифференцировки клеток. Тканеспецифичность ВКМ формируется в процессе гисто- и органогенеза и впоследствии поддерживается. A. Naba с соавт. [28] выявили, что помимо структурных белков в построении и обновлении матрикса активное участие принимают ферменты, в первую очередь матриксные металлопротеиназы, обуславливающие полимеризацию и созревание белковых фибрилл, а также протеолиз белков ВКМ. Таким образом, ВКМ представляет собой тканеспецифичную сеть белковых полимеров, состав которой определяет его жесткость и упругость, пористость, степень гидратации и способность взаимодействовать с клетками, внеклеточными везикулами и такими биологически активными молекулами, как факторы роста. Все эти свойства ВКМ обуславливают его способность регулировать активность клеток и играть важную роль в определении их судьбы, в частности стволовых клеток постнатального организма [2, 13, 24].

P. Lu с соавт. [20] установили, что ремоделирование ВКМ — важный механизм, с помощью которого можно регулировать дифференцировку клеток, включая такие процессы, как создание и поддержание ниш стволовых клеток, морфогенез ветвления, ангиогенез, формирование кости и заживление ран. Обновление многих тканей организма человека происходит благодаря пролиферации и дифференцировке тканеспецифичных стволовых клеток, которые в тканях

располагаются в специализированных «нишах». Потенциально ВКМ должен способствовать дифференцировке стволовых клеток в клетки той ткани, из которой был выделен, таким образом он обладает тканеспецифичностью в поддержании определенной ниши для клеток [2]. ВКМ может обеспечивать адекватное клеточное микроокружение, пролиферацию, поляризацию, миграцию клеток [23]. По свидетельству Y.M. Yamashita с соавт. [29], потенциальный механизм, посредством которого ВКМ регулирует биологию стволовых клеток, заключается в поддержании клеточной поляриности, ориентации митотического веретена и асимметричном клеточном делении. ВКМ связывает факторы роста и взаимодействует с рецепторами клеточной поверхности, чтобы направлять передачу сигналов и регулировать транскрипцию генов, управляя важными морфологическими и физиологическими функциями [30]. Таким образом, как состав, так и физические свойства ВКМ влияют на самоподдержание, пролиферацию и дифференцировку стволовых клеток [24].

### **Получение децеллюляризованного внеклеточного матрикса**

Децеллюляризация — процесс удаления клеток и генетического материала из ВКМ при максимальном сохранении его структурных, биохимических и биомеханических свойств [10]. Помимо удаления клеточного содержимого [31] и ядерного материала [32, 33] при сохранении нативной структуры ВКМ [34] процедура децеллюляризации также требует удаления потенциальных загрязнителей и остаточных детергентов [34]. Успешность процесса получения дВКМ зависит от типа исходной ткани, методов децеллюляризации и последующих, завершающих процессов, например конечной стерилизации или химической модификации. Манипуляции и конкретные реактивы каждого этапа производства оказывают заметное влияние на физические и биохимические свойства матрикса, а также на последующий клеточный ответ и, как следствие этого, результат ремоделирования ткани [7].

### **Роль источника децеллюляризованного внеклеточного матрикса**

Как известно, дВКМ получают путем децеллюляризации и обработки исходных тканей, собранных у людей (аллогенный ВКМ) или животных (ксеногенный ВКМ) [35]. Для получения дВКМ чаще всего используют органы свиньи [36, 37]. Другими источниками тканей могут служить крупный рогатый скот, козы и крысы [38]. дВКМ крыс и крупного рогатого скота широко применяется для исследований, но не в клинической практике [36, 37]. дВКМ человека может быть получен, например, из жировой ткани, взятой при липосакции, или пожертвованных органов, включая трупный материал [39]. M.C. Cramer и S.F. Badylak [7] установили, что мо-



лекулы, составляющие ВКМ, высококонсервативны у млекопитающих. Это является одной из причин того, что ксеногенный дВКМ не вызывает неблагоприятной воспалительной реакции при имплантации человеку [7]. Среди протеинов наиболее эволюционно консервативны белки базальной мембраны, такие как ламинин и коллаген IV типа [40]. Высокая межвидовая гомология наблюдается и для других компонентов ВКМ, включая коллагены, фибронектин, ГАГ и факторы роста [7]. В то же время, по свидетельству К. Dzobo с соавт. [37], ВКМ тканей животных одного вида может иметь различия в зависимости от возраста и пола. Возраст донора исходной ткани влияет не только на механические свойства ВКМ, но, главное, на состав получаемого дВКМ [41–44]. Z. Wang с соавт. [45] приводят данные, что ВКМ тканей плода и новорожденных особенно богат ГАГ, такими как гиалуроновая кислота и фибронектин. Содержание ламинина [46], эластина [45, 46] и факторов роста [43] уменьшается с возрастом. Коллаген молодых животных содержит меньше поперечных сшивок, чем коллаген взрослого организма, что является фактором, способствующим более быстрой деградации ВКМ молодых животных по сравнению с ВКМ взрослых [43]. Авторы работ [47, 48] обратили внимание на то, что ксеногенные источники дВКМ могут представлять потенциальную опасность с точки зрения переноса болезней, общих для человека и животных.

#### **Агенты децеллюляризации и их влияние на состав децеллюляризованного внеклеточного матрикса**

Существующие методы децеллюляризации изложены во многих работах [10, 35, 36, 49–52]. В зависимости от количества и типа клеток, толщины ткани, содержания липидов и др. в них используются различные агенты децеллюляризации [32, 36]. Упрощенно они могут быть разделены на четыре группы: 1) химические, включая кислоты и основания, детергенты, гипотонические и гипертонические растворы, спирты и растворители; 2) биологические, включая ферменты, в том числе нуклеазы и хелатирующие агенты; 3) физические, включая температуру, осмотическое давление, электропорацию и прямое воздействие силы; 4) комбинации двух или всех трех из перечисленных методов [10, 32, 34–36, 49–52].

Продолжительность обработки может составлять от одного дня до недели и более. Известно, что агенты влияют на состав дВКМ. Например, гидроксид аммония, додецилсульфат натрия и тритон X-100 — стандартные химические реагенты для децеллюляризации, удаляют или повреждают компоненты ВКМ [32]. Обработка кислотой и щелочью, включая гидроксид аммония и гидроксид натрия, может привести к удалению факторов роста и повлиять на прочность дВКМ (каркас органа). В то же время одним из преимуществ использования кислотной и щелочной об-

работки является стерилизация окончательного продукта. В отношении тритона X-100 в работах [35, 53] показано снижение в дВКМ количества фибронектина и ламинина и повреждение ультраструктуры матрикса в дополнение к удалению ГАГ. Гидроксид аммония и додецилсульфат натрия вызывают повреждение коллагенов [53–57]. Установлено негативное действие додецилсульфата натрия на факторы роста [32]. К преимуществам последнего реагента можно отнести возможность его применения для плотных тканей и органов.

Ферментативная децеллюляризация осуществляется с помощью нуклеаз (ДНКазы, РНКазы) и протеаз (трипсин, диспаза). Однако слишком длительное воздействие трипсина на ткань и орган может привести к повреждению структуры матрикса и удалению таких белков, как коллаген, ламинин, фибронектин и эластин, о чем сообщается в работах [32, 49, 53]. Таким же негативным действием на коллаген обладают нуклеазы, применение которых, кроме того, сопряжено с трудностями по их удалению из ткани или органа.

Физическая децеллюляризация, несмотря на меньшее нарушение структуры ВКМ, может привести к неполному удалению клеточного детрита, что в свою очередь может вызвать иммунные реакции, особенно если дВКМ используется для трансплантации.

#### **Процедура децеллюляризации**

Существует четыре способа обработки агентами органа или ткани: использование перфузии, градиента давления, сверхкритической жидкости, а также погружения и перемешивания [36]. Большие органы обычно децеллюляризуются путем перфузии [58]. Если нет необходимости в сохранении каркаса органа, например при получении биочернил, ткани можно разрезать или измельчить на мелкие кусочки [59, 60], которые затем подвергают действию агента децеллюляризации при встряхивании в течение различных периодов времени (от часов до дней, а иногда и недель) [32, 36, 53, 61, 62]. Однако полное растворение является одним из основных недостатков использования небольших кусочков ткани или органа. В целом различия состава ВКМ в зависимости от вида организма, типа ткани и возраста донора, а также анатомического участка требуют применения различных протоколов децеллюляризации и обработки.

Децеллюляризация — это длительный процесс, который требует пристального контроля со стороны исследователя и большого процента операций, проводимых вручную. Поэтому получение больших количеств функционального дВКМ затруднено. По мнению D. Choudhury и соавт. [34], автоматизация процесса, а также интеграция различных протоколов позволят значительно сократить время, которое тратится на децеллюляризацию, и увеличить количество дВКМ. Это будет способствовать более масштабному использованию матрикса в регенеративной медицине. Авторы

приводят описание современных систем, применяемых для децеллюляризации. К сожалению, в настоящее время большинство описанных систем по автоматизации и оптимизации процесса децеллюляризации используются ограниченным кругом исследователей в организациях, где эти методики и были разработаны.

### Стерилизация децеллюляризованного внеклеточного матрикса

Заключительным этапом обработки является стерилизация дВКМ. Наиболее часто для этих целей применяют этанол и перуксусную кислоту [37]. Гамма-излучение в дозах от 1000 до 10000 Гр (в среднем 3000 Гр) также используют для стерилизации дВКМ [63, 64]. Альтернативным способом служит применение газообразного оксида этилена и диоксида углерода [63, 65, 66]. Одна из основных проблем, связанных с этапом стерилизации, — возможное изменение состава полученного дВКМ [37], особенно это относится к действию гамма-излучения [64].

### Критерии завершенности децеллюляризации

Основными недостатками всех протоколов децеллюляризации остаются иммуногенность, тромбогенность и изменение ВКМ. Успешная децеллюляризация предполагает достижение сразу двух условий: удаление клеточного материала и сохранение функциональности матрикса [10]. Универсальных и, главное, общепринятых стандартов для адекватной оценки завершенности децеллюляризации не существует. В настоящее время разные исследовательские группы используют разные оценочные методы [34]. Р.М. Старо и соавт. [32] предложили минимальные критерии для оценки удаления остаточной ДНК и генетического материала, которых, по их мнению, было бы достаточно для подтверждения децеллюляризации. Эти критерии предполагают следующее: 1) дВКМ должен содержать менее 50 нг ДНК на 1 мг сухой массы ВКМ; 2) длина фрагментов ДНК должна быть менее 200 пар нуклеотидов; 3) на срезах ткани, окрашенных DAPI или гематоксилином и эозином, должны отсутствовать следы генетического материала. По мнению A. Gilpin и Y. Yang [67], чтобы процесс децеллюляризации считался успешным, должно быть достигнуто удаление по крайней мере 90% ДНК хозяина.

Некоторые другие методы определения завершенности децеллюляризации — это количественная оценка остаточных детергентов, а также гистологические и биохимические исследования наличия компонентов ВКМ, таких как коллаген или ГАГ [34, 52]. Хотя эти критерии могут быть полезны для оценки степени удаления клеток, требуются дальнейшие исследования, чтобы определить порог для индукции иммунного ответа после имплантации в организм хозяина [10].

Определение функциональности дВКМ должно включать композиционный, структурный и механиче-

ский анализы для оценки изменений, производимых в ВКМ [10]. Обеспечение наличия после процесса децеллюляризации таких компонентов, как коллаген, эластин, ламинины и фибронектин, а также ГАГ, имеет ключевое значение для поддержания адекватной функциональности дВКМ. Представляют интерес механические свойства, такие как прочность на разрыв, модуль упругости, модуль вязкости, жесткость или предел текучести. Другой параметр, который следует учитывать, — это анизотропные или изотропные характеристики ткани, поскольку они могут в некоторой степени контролировать ориентацию пересекающихся клеток [10].

### Обработка децеллюляризованного внеклеточного матрикса

В конечном итоге децеллюляризация направлена на получение двух различных продуктов: полного каркаса органа или рыхлой ткани дВКМ. При децеллюляризации всего органа его трехмерная структура сохраняется, включая сосудистую сеть. Ее возможности потенциально могут быть реализованы при последующей рецеллюляризации [68–70]. Другой продукт — рыхлая ткань дВКМ, которая представляет собой очищенный и стерилизованный ВКМ, отделенный от органа [34]. Он может быть использован для получения порошка матрикса и/или биочернил.

Децеллюляризованный матрикс сам по себе представляет основу для рецеллюляризации, которая может происходить до или после имплантации [71]. Установлено, что имплантированные «голые» каркасы из дВКМ будут инфильтрованы собственными клетками реципиента, которые со временем заменят децеллюляризованный матрикс вновь образованным ВКМ [72–74]. При этом J.R.G. Etnel и соавт. [75] показали, что децеллюляризованные трансплантаты сами по себе могут привести к удовлетворительным клиническим результатам, и, следовательно, вопрос о том, нужно ли повторно заселять децеллюляризованный матрикс соответствующими клетками, остается открытым [10]. Материал дВКМ, который сохраняет свою первоначальную структуру, обладает преимуществами: неповрежденной сосудистой сетью, точной формой производной ткани и сохраненной механической прочностью. Хотя такие формы дВКМ подвергаются меньшему количеству стадий обработки, их клиническое применение несколько ограничено, поскольку структура затрудняет конформационную адаптацию [76].

### Получение порошка

Децеллюляризованный ВКМ можно измельчить и получить порошок, который затем применяют в виде частиц или ферментативно растворяют и используют в виде жидкости или геля. Ферментативное переваривание такого порошка требует кислой среды, по-

этому для растворения обычно применяют соляную или уксусную кислоту и пепсин [76]. Для дальнейшего использования кислый раствор нейтрализуют до физиологического pH [76, 77]. Порошок и конструкции на основе жидких суспензий и гелей дВКМ могут заполнять области объемного повреждения и соответствовать контурам нативных тканей. Приспосабливаемая форма порошка и его растворенная форма позволяют проводить минимально инвазивную имплантацию, например инъекцию. В отличие от конструкций с фиксированной структурой, которые проявляют склонность к сжатию, дВКМ в виде порошка и растворов сохраняют принятую форму [78].

Приготовление порошка дВКМ включает в себя обширную обработку, состоящую из замораживания, лиофилизации и дробления. Потенциально она изменяет биологическую целостность дВКМ. Этапы обработки могут повлиять на состав, механическую прочность и ультраструктуру дВКМ [79]. Предположительно компоненты дВКМ разрушаются на каждом этапе изготовления и процесс может в свою очередь изменить реакцию хозяина на имплантацию *in vivo* [80]. Несмотря на сообщения о конструкциях, демонстрирующих желаемую биоактивность, тканеспецифические параметры для оптимального изготовления порошка не определены [76]. Для оптимизации применения порошка дВКМ следует учитывать, хотя и не ограничиваясь этим, следующие моменты: количество и концентрацию порошка, используемого в конструкциях; размер и морфологию частиц; растворение порошка и сшивание дВКМ. Все методы и протоколы должны быть воспроизводимыми, если конструкции будут использоваться в клинических условиях [76].

### Получение биочернил

С развитием технологий биопечати гидрогели на основе дВКМ получили новое применение в качестве биочернил. В определении F. Kabirian и M. Mozafari [35] биочернила — это основные строительные блоки печатных конструкций, играющие решающую роль в поддержке и обеспечении соответствующей среды для встроенных клеток. Требования, которым должны соответствовать биочернила, изложены во многих работах [57, 81–85]. Комбинация технологии биопечати и биочернил с дВКМ — многообещающий и логичный подход к созданию ТИК [51].

Гидрогели дВКМ состоят из функциональных, структурных и сигнальных молекул, таких как коллаген, ламинин, фибронектин, ГАГ и факторы роста, которые могут сохраняться в дВКМ. Поэтому биочернила, полученные из дВКМ, представляют собой биоматериал, демонстрирующий наивысшую степень сходства с нативной тканью [51]. дВКМ может быть использован в качестве единственного компонента гидрогеля или с применением сшивающих агентов и созданием композитов с дополнительными материалами [59, 62, 78, 86–94]. Обычный метод изготовления гидро-

гелей с дВКМ в качестве единственного элемента в материале включает лиофилизацию, измельчение и переваривание дВКМ пепсином. Перед добавлением клеток pH доводят до нейтральных значений [91, 92]. Гидрогель формируется при температуре +37°C [77]. Недостатком таких гелей является низкая вязкость, что делает их мало пригодными для печати [36]. Композиционные гидрогели могут быть изготовлены с использованием фотосшивания [84, 92, 95], химического сшивания [96, 97] или путем добавления других материалов с целью улучшения механических и реологических свойств [89, 93].

### Различия в белковом составе нативного и децеллюляризованного внеклеточного матрикса

Белки являются наиболее важными компонентами ВКМ и отвечают за его биомиметические свойства. Однако состав белков до и после децеллюляризации будет отличаться. Белковый профиль некоторых тканей свиньи приведен у D. Choudhury и соавт. [36]. В работе D.O. Visscher и соавт. [95] отмечено существенное изменение протеома децеллюляризованного эластического свиного хряща из ушной раковины по сравнению с нативной тканью. Содержание коллагена и ГАГ в децеллюляризованной хрящевой ткани было значительно ниже, отсутствовал эластин — основной компонент эластического хряща. Протеомный анализ выявил 683 уникальных белка, содержащихся только в нативном хряще, 21 белок, содержащийся только в децеллюляризованном хряще и 412 белков, содержащихся как в нативном, так и в децеллюляризованном хряще. Общее количество белков, идентифицированных в обеих тканях, составляло  $1063 \pm 54$  — для нативного и  $427 \pm 129$  — для децеллюляризованного хряща.

В то же время R.J. Nagao и соавт. [98] сообщают, что при децеллюляризации коркового слоя почек человека большинство нативных матриксных белков, таких как коллаген IV типа, ламинин и гепарансульфат протеогликан (HSPG), а также их изоформы сохранялись в тех же пропорциях, что и в нормальных почках. Были обнаружены все шесть  $\alpha$ -цепей коллагена IV типа. Процесс децеллюляризации сохранил не только цепи COL4A1 и COL4A2, которые повсеместно присутствуют во всех базальных мембранах, но также цепи COL4A3 и COL4A5, которые расположены только в специализированных базальных мембранах в пределах почечных клубочков. Количество коллагена I типа составляло  $20,1 \pm 2,3\%$  всех белков. Белок HSPG был обнаружен, несмотря на использование сильного анионного детергента; коллаген XVIII типа — компонент HSPG базальных мембран коры почек — также присутствовал в количестве около 1%. Другие компоненты матрикса, такие как витронектин, фибриноген и эластин, были обнаружены в 2,4%, 0,4% и 0,3% соответственно [98].



## Применение децеллюляризованного внеклеточного матрикса в тканевой инженерии

Для практического применения ВКМ в настоящее время децеллюляризованы многочисленные ткани и органы, и дВКМ уже успешно используют в клинической практике для регенерации различных тканей. Биологические материалы, включающие дВКМ млекопитающих, используют в тканевой инженерии сердечной мышцы [86, 87, 90, 99–101], хряща [92, 93, 95, 100–105], сухожилий [106, 107], печени [59, 87, 91, 94], кожи [62, 88, 108, 109], роговицы [110], дыхательных путей [70], жировой ткани [100, 101, 111], кости [112, 113], мозга [96], почки [98]. В большинстве перечисленных работ гидрогель дВКМ является составной частью биочернил, а ТИК получены методом 3D-биопечати.

Можно выделить ряд наиболее интересных работ. F. Pati и соавт. [100] описан метод биопечати нагруженных клетками конструкций с биочернилами на основе дВКМ, полученного из жировой ткани человека, хрящевой и сердечной тканей свиньи. Авторы наблюдали дифференцировку стволовых клеток человека и крысиных миобластов в необходимом направлении и формирование соответствующей ткани без добавления экзогенных факторов роста. Однако, несмотря на сообщение о том, что 3% гель из дВКМ сохраняет форму после печати, при изготовлении конструкций с матриксом из хрящевой и жировой тканей авторы все же дополнительно применяли поддерживающий каркас из поликапролактона.

Получение биочернил из дВКМ описано и в работе H. Kim и соавт. [110], в которой в качестве источника ВКМ использовали роговицу. Разработанные биочернила имели сходные количества коллагена и гликозаминогликанов по сравнению с нативной роговицей и обладали необходимой прозрачностью для обеспечения зрения.

Эффективность растворимой фракции дВКМ была показана V.B. Rothrauff и соавт. [105]. Биочернила на основе желатин метакрилоила, дополненные растворимой фракцией дВКМ из менисков телят, ускоряли хондрогенную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток человека при культивировании в хондрогенной среде, что было подтверждено анализом экспрессии генов и повышенным образованием сульфатированных ГАГ. Однако здесь ТИК получали методом формовки, т.е. без использования 3D-печати.

Эффективность подхода была показана в исследовании X. Zhang и J. Dong [114], где оценивались свойства биочернил на основе фиброина шелка и дВКМ, полученного из хрящевой ткани коз. Биочернила, содержащие стволовые клетки костного мозга и дополненные трансформирующим фактором роста  $\beta 3$  (TGF- $\beta 3$ ), способствовали хондрогенной дифференцировке стволовых клеток, а сама ТИК имела хорошую прочность и высокие темпы биodeградации.

В отдельных работах описано применение дВКМ в виде порошка, в основном для регенерации хрящевой

ткани. Так, H. Yin и соавт. [104] показали, что стволовые клетки костного мозга активно пролиферировали на поверхности частиц дВКМ и дифференцировались в зрелые хондроциты через 21 день без использования экзогенных факторов роста. По мере увеличения времени культивирования образовывались функциональные агрегаты микроорганических структур хряща, которые после имплантации в дефекты хрящевой ткани коленного сустава крыс способствовали более быстрому и лучшему заживлению по сравнению с контрольными группами, где дефекты лечились только частицами дВКМ или только фибриновым клеем [104].

В работе J.E. Barthold и соавт. [115] порошок дВКМ добавляли в гидрогель гиалуроновой кислоты и наблюдали миграцию хондроцитов к гранулам. T. Thitiset и соавт. [112] показали, что деминерализованный костный порошок (размер частиц — 250–500 мкм) обеспечивает клеткам надкостницы человека необходимый остеоиндуктивный стимул в отсутствие дополнительных экзогенных факторов роста. H.V. Almeida и соавт. [102] разработали инъекционный гидрогель фибрина, функционализированный микрочастицами дВКМ хряща и TGF- $\beta 3$ , в качестве предполагаемого терапевтического средства для регенерации суставного хряща. После 28 дней культивирования *in vitro* композиты фибрин–дВКМ с добавлением TGF- $\beta 3$  макроскопически напоминали хрящ.

Единичные работы сообщают о включении порошка дВКМ в состав биочернил для получения ТИК. Для замещения суставного хряща применяли биочернила из порошка дВКМ хрящевой ткани свиньи (18% формуляция), смешанного с раствором фиброина шелка (7%) [30]. Мезенхимальные стволовые клетки из костного мозга высевались сверху уже после процедуры 3D-печати, что не позволяет считать эти биочернила истинными, так как клетки должны быть заключены в них до печати. В другом исследовании в роли биочернил выступала композиция на основе гиалуроновой кислоты (3 мг/мл), желатина (37,5 мг/мл) и фибриногена (3 мг/мл), дополненная порошком дВКМ свиной печени с размером частиц ~13,4 мкм [94]. Результаты показали хорошие механические свойства и, соответственно, пригодность для 3D-печати по сравнению с биочернилами из гидрогеля дВКМ, а также высокую биосовместимость.

Нами приведена только часть опубликованных в литературе исследований, характеризующих основные тенденции применения дВКМ в тканевой инженерии. Из опубликованных данных можно заключить, что действие дВКМ на дифференцировку клеток сомнению не подлежит. Однако степень, с которой каждая ткань может управлять клеточными линиями, различается. Сердце, печень и жировая ткань демонстрируют способность к дифференцировке при использовании только дВКМ без внесения дополнительных факторов [59, 87, 89, 91, 100, 101, 114, 116, 117]. В случае других тканей, например легкого и почки, действия одного дВКМ на дифференцировку стволовых клеток в нужном на-



правлении недостаточно и требуются дополнительные стимулы для образования новой ткани [118, 119].

## Заключение

Тканеинженерные конструкции, включающие дВКМ млекопитающих, могут способствовать благоприятным процессам восстановления тканей в широком диапазоне клинических применений. Механизмы, с помощью которых дВКМ ремоделирует ткань, включают среди прочего деградацию и генерацию биоактивных молекул, рекрутирование и дифференцировку эндогенных стволовых клеток и клеток-предшественников, а также модуляцию иммунного ответа. Эти положительные результаты в решающей степени зависят от методов, используемых для получения дВКМ. Источник ткани, протокол децеллюляризации и включение дополнительных этапов обработки влияют на клеточный ответ и результат ремоделирования скаффолда с дВКМ. Биочернила на основе дВКМ обеспечивают новый подход к созданию биомиметических тканеинженерных конструкций.

Для успешного применения дВКМ в тканевой инженерии и регенеративной медицине необходимы постоянный и биологически приемлемый источник ВКМ, оптимизированные протоколы децеллюляризации тканей для предотвращения изменения состава матрикса, улучшение механических свойств биочернил на основе дВКМ и предотвращение иммунологической реакции организма.

**Вклад авторов:** Е.В. Исаева, Н.В. Аргучинская — поиск литературы, написание и оформление статьи; Е.Е. Бекетов — редактирование статьи; С.А. Иванов — ресурсное обеспечение исследования; П.В. Шегай, А.Д. Каприн — администрирование.

**Источники финансирования.** Данная работа проводилась в рамках выполнения тем государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации за 2019–2021 гг.

**Конфликт интересов.** Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## Литература/References

1. Бекетов Е.Е., Исаева Е.В., Шегай П.В., Иванов С.А., Каприн А.Д. Современное состояние тканевой инженерии для восстановления хрящевой ткани. *Гены и клетки* 2019; 14(2): 12–20, <https://doi.org/10.23868/201906013>.

Beketov E.E., Isaeva E.V., Shegay P.V., Ivanov S.A., Kaprin A.D. Current state of tissue engineering for cartilage regeneration. *Geny i kletki* 2019; 14(2): 12–20, <https://doi.org/10.23868/201906013>.

2. Agmon G., Christman K.L. Controlling stem cell behavior with decellularized extracellular matrix scaffolds. *Curr Opin Solid State Mater Sci* 2016; 20(4): 193–201, <https://doi.org/10.1016/j.cossms.2016.02.001>.

3. Hoshiba T., Lu H., Kawazoe N., Chen G. Decellularized matrices for tissue engineering. *Expert Opin Biol Ther* 2010; 10(12): 1717–1728, <https://doi.org/10.1517/14712598.2010.534079>.

4. Frantz C., Stewart K.M., Weaver V.M. The extracellular matrix at a glance. *J Cell Sci* 2010; 123(Pt 24): 4195–4200, <https://doi.org/10.1242/jcs.023820>.

5. Clause K.C., Barker T.H. Extracellular matrix signaling in morphogenesis and repair. *Curr Opin Biotechnol* 2013; 24(5): 830–833, <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.04.011>.

6. Theocharis A.D., Gialeli C., Hascall V., Karamanos N.K. Extracellular matrix: a functional scaffold. In: *Extracellular matrix: pathobiology and signaling*. Karamanos N.K. (editor). Berlin: Walter de Gruyter; 2012; p. 3–20, <https://doi.org/10.1515/9783110258776.3>.

7. Cramer M.C., Badylak S.F. Extracellular matrix-based biomaterials and their influence upon cell behavior. *Ann Biomed Eng* 2020; 48(7): 2132–2153, <https://doi.org/10.1007/s10439-019-02408-9>.

8. Yao Q., Zheng Y.W., Lan Q.H., Kou L., Xu H.L., Zhao Y.Z. Recent development and biomedical applications of decellularized extracellular matrix biomaterials. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2019; 104: 109942, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109942>.

9. Hynes R.O., Naba A. Overview of the matrisome — an inventory of extracellular matrix constituents and functions. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2012; 4(1): a004903, <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004903>.

10. García-Gareta E., Abduldaem Y., Sawadkar P., Kyriakidis Ch., Lali F., Greco K.V. Decellularised scaffolds: just a framework? Current knowledge and future directions. *J Tissue Eng* 2020; 11: 2041731420942903, <https://doi.org/10.1177/2041731420942903>.

11. Jansen K.A., Atherton P., Ballestrem C. Mechanotransduction at the cell-matrix interface. *Semin Cell Dev Biol* 2017; 71: 75–83, <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.07.027>.

12. Aiyelabegan H.T., Sadroddiny E. Fundamentals of protein and cell interactions in biomaterials. *Biomed Pharmacother* 2017; 88: 956–970, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.136>.

13. Bonnans C., Chou J., Werb Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(12): 786–801, <https://doi.org/10.1038/nrm3904>.

14. Järveläinen H., Sainio A., Koulu M., Wight T.N., Penttinen R. Extracellular matrix molecules: potential targets in pharmacotherapy. *Pharmacol Rev* 2009; 61(2): 198–223, <https://doi.org/10.1124/pr.109.001289>.

15. Bateman J.F., Boot-Handford R.P., Lamandé S.R. Genetic diseases of connective tissues: cellular and extracellular effects of ECM mutations. *Nature Rev Genet* 2009; 10(3): 173–183, <https://doi.org/10.1038/nrg2520>.

16. Rozario T., DeSimone D.W. The extracellular matrix in development and morphogenesis: a dynamic view. *Dev Biol* 2010; 341(1): 126–140, <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.10.026>.

17. Theocharis A.D., Skandalis S.S., Gialeli C., Karamanos N.K. Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev* 2016; 97: 4–27, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.11.001>.

18. LeBleu V.S., Macdonald B., Kalluri R. Structure and function of basement membranes. *Exp Biol Med (Maywood)* 2007; 232(9): 1121–1129, <https://doi.org/10.3181/0703-mr-72>.

19. Kirkpatrick C.A., Selleck S.B. Heparan sulfate proteoglycans at a glance. *J Cell Sci* 2007; 120(11): 1829–1832, <https://doi.org/10.1242/jcs.03432>.

20. Lu P., Takai K., Weaver V.M., Werb Z. Extracellular

- matrix degradation and remodeling in development and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; 3(12): a005058, <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005058>.
21. Zhen G., Cao X. Targeting TGF $\beta$  signaling in subchondral bone and articular cartilage homeostasis. *Trends Pharmacol Sci* 2014; 35(5): 227–236, <https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.03.005>.
22. Oever M.V., Twaroski K., Osborn M.J., Wagner J.E., Tolar J. Inside out: regenerative medicine for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Pediatr Res* 2018; 83(1–2): 318–324, <https://doi.org/10.1038/pr.2017.244>.
23. Gattazzo F., Urciuolo A., Bonaldo P. Extracellular matrix: a dynamic microenvironment for stem cell niche. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1840(8): 2506–2519, <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.01.010>.
24. Novoseletskaia E.S., Grigorieva O.A., Efimenko A.Y., Kalinina N.I. Extracellular matrix in the regulation of stem cell differentiation. *Biochemistry (Mosc)* 2019; 84(3): 232–240, <https://doi.org/10.1134/s0006297919030052>.
25. Novoseletskaia E., Grigorieva O., Nimiritsky P., Basalova N., Eremichev R., Milovskaya I., Kulebyakin K., Kulebyakina M., Rodionov S., Omelyanenko N., Efimenko A. Mesenchymal stromal cell-produced components of extracellular matrix potentiate multipotent stem cell response to differentiation stimuli. *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 555378, <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.555378>.
26. Kim B.S., Das S., Jang J., Cho D.W. Decellularized extracellular matrix-based bioinks for engineering tissue- and organ-specific microenvironments. *Chem Rev* 2020; 120(19): 10608–10661, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00808>.
27. Ragelle H., Naba A., Larson B.L., Zhou F., Prijic M., Whittaker C.A., Rosario A.D., Langer R., Hynes R.O., Anderson D.G. Comprehensive proteomic characterization of stem cell-derived extracellular matrices. *Biomaterials* 2017; 128: 147–159, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.03.008>.
28. Naba A., Clauser K.R., Ding H., Whittaker C.A., Carr S.A., Hynes R.O. The extracellular matrix: tools and insights for the “omics” era. *Matrix Biol* 2016; 49: 10–24, <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.06.003>.
29. Yamashita Y.M., Fuller M.T., Jones D.L. Signaling in stem cell niches: lessons from the *Drosophila* germline. *J Cell Sci* 2005; 118(4): 665–672, <https://doi.org/10.1242/jcs.01680>.
30. Jung C.S., Kim B.K., Lee J., Min B.H., Park S.H. Development of printable natural cartilage matrix bioink for 3D printing of irregular tissue shape. *Tissue Eng Regen Med* 2017; 15(2): 155–162, <https://doi.org/10.1007/s13770-017-0104-8>.
31. Ott H.C., Matthiesen T.S., Goh S.K., Black L.D., Kren S.M., Netoff T.I., Taylor D.A. Perfusion-decellularized matrix: using nature’s platform to engineer a bioartificial heart. *Nat Med* 2008; 14(2): 213–221, <https://doi.org/10.1038/nm1684>.
32. Crapo P.M., Gilbert T.W., Badylak S.F. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials* 2011; 32(12): 3233–3243, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.057>.
33. Poornejad N., Momtahan N., Salehi A.S., Scott D.R., Fronk C.A., Roeder B.L., Reynolds P.R., Bundy B.C., Cook A.D. Efficient decellularization of whole porcine kidneys improves reseeded cell behavior. *Biomed Mater* 2016; 11(2): 025003, <https://doi.org/10.1088/1748-6041/11/2/025003>.
34. Choudhury D., Yee M., Sheng Z.L.J., Amirul A., Naing M.W. Decellularization systems and devices: state-of-the-art. *Acta Biomater* 2020; 115: 51–59, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.07.060>.
35. Kabirian F., Mozafari M. Decellularized ECM-derived bioinks: prospects for the future. *Methods* 2020; 171: 108–118, <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2019.04.019>.
36. Choudhury D., Tun H.W., Wang T., Naing M.W. Organ-derived decellularized extracellular matrix: a game changer for bioink manufacturing? *Trends Biotechnol* 2018; 36(8): 787–805, <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.03.003>.
37. Dzobo K., Motaung K.S.C.M., Adesida A. Recent trends in decellularized extracellular matrix bioinks for 3D printing: an updated review. *Int J Mol Sci* 2019; 20(18): 4628, <https://doi.org/10.3390/ijms20184628>.
38. Saldin L.T., Cramer M.C., Velankar S.S., White L.J., Badylak S.F. Extracellular matrix hydrogels from decellularized tissues: structure and function. *Acta Biomater* 2017; 49: 1–15, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.11.068>.
39. Johnson T.D., DeQuach J.A., Gaetani R., Ungerleider J., Elhag D., Nigam V., Behfar A., Christman K.L. Human versus porcine tissue sourcing for an injectable myocardial matrix hydrogel. *Biomater Sci* 2014; 2014: 60283D, <https://doi.org/10.1039/c3bm60283d>.
40. Hynes R.O. The evolution of metazoan extracellular matrix. *J Cell Biol* 2012; 196(6): 671–679, <https://doi.org/10.1083/jcb.201109041>.
41. LoPresti S.T., Brown B.N. Effect of source animal age upon macrophage response to extracellular matrix biomaterials. *J Immunol Regen Med* 2018; 1: 57–66, <https://doi.org/10.1016/j.regen.2018.03.004>.
42. Silva A.C., Rodrigues S.C., Caldeira J., Nunes A.M., Sampaio-Pinto V., Resende T.P., Oliveira M.J., Barbosa M.A., Thorsteinsdóttir S., Nascimento D.S., Pinto-do-Ó P. Three-dimensional scaffolds of fetal decellularized hearts exhibit enhanced potential to support cardiac cells in comparison to the adult. *Biomaterials* 2016; 104: 52–64, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.06.062>.
43. Tottey S., Johnson S.A., Crapo P.M., Reing J.E., Zhang L., Jiang H., Medberry C.J., Reines B., Badylak S.F. The effect of source animal age upon extracellular matrix scaffold properties. *Biomaterials* 2011; 32(1): 128–136, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.09.006>.
44. Williams C., Quinn K.P., Georgakoudi I., Black L.D. III. Young developmental age cardiac extracellular matrix promotes the expansion of neonatal cardiomyocytes in vitro. *Acta Biomater* 2014; 10(1): 194–204, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.08.037>.
45. Wang Z., Long D.W., Huang Y., Chen W.C.W., Kim K., Wang Y. Decellularized neonatal cardiac extracellular matrix prevents widespread ventricular remodeling in adult mammals after myocardial infarction. *Acta Biomater* 2019; 87: 140–151, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.01.062>.
46. Godin L.M., Sandri B.J., Wagner D.E., Meyer C.M., Price A.P., Akinola I., Weiss D.J., Panoskaltzis-Mortari A.P.M. Decreased laminin expression by human lung epithelial cells and fibroblasts cultured in acellular lung scaffolds from aged mice. *PLoS One* 2016; 11(3): e0150966, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150966>.
47. Porzionato A., Stocco E., Barbon S., Grandi F., Macchi V., De Caro R. Tissue-engineered grafts from human decellularized extracellular matrices: a systematic review and future perspectives. *Int J Mol Sci* 2018; 19(12): 4117, <https://doi.org/10.3390/ijms19124117>.

48. Kočí Z., Výborný K., Dubišová J., Vacková I., Jäger A., Lunov O., Jiráková K., Kubinová Š. Extracellular matrix hydrogel derived from human umbilical cord as a scaffold for neural tissue repair and its comparison with extracellular matrix from porcine tissues. *Tissue Eng Part C Methods* 2017; 23(6): 333–345, <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2017.0089>.
49. Keane T.J., Swinehart I.T., Badylak S.F. Methods of tissue decellularization used for preparation of biologic scaffolds and in vivo relevance. *Methods* 2015; 84: 25–34, <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.03.005>.
50. Badylak S.F., Taylor D., Uygun K. Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds. *Annu Rev Biomed Eng* 2011; 13: 27–53, <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071910-124743>.
51. Ebrahimi Sadrabadi A., Baei P., Hosseini S., Baghaban Eslaminejad M. Decellularized extracellular matrix as a potent natural biomaterial for regenerative medicine. *Adv Exp Med Biol* 2021; 1341: 27–43, [https://doi.org/10.1007/5584\\_2020\\_504](https://doi.org/10.1007/5584_2020_504).
52. Kim Y.S., Majid M., Melchiorri A.J., Mikos A.G. Applications of decellularized extracellular matrix in bone and cartilage tissue engineering. *Bioeng Transl Med* 2019; 4(1): 83–95, <https://doi.org/10.1002/btm2.10110>.
53. Gilbert T.W., Sellaro T.L., Badylak S.F. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials* 2006; 27(19): 3675–3683, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.02.014>.
54. Ghiringhelli M., Zenobi A., Brizzola S., Gandolfi F., Bontempo V., Rossi S., Brevini T.A.L., Acocella F. Simple and quick method to obtain a decellularized, functional liver bioscaffold. *Methods Mol Biol* 2018; 1577: 283–292, [https://doi.org/10.1007/7651\\_2017\\_97](https://doi.org/10.1007/7651_2017_97).
55. Kajbafzadeh A.M., Javan-Farazmand N., Monajemzadeh M., Baghayee A. Determining the optimal decellularization and sterilization protocol for preparing a tissue scaffold of a human-sized liver tissue. *Tissue Eng Part C Methods* 2013; 19(8): 642–651, <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2012.0334>.
56. Lu H., Hoshiba T., Kawazoe N., Chen G. Comparison of decellularization techniques for preparation of extracellular matrix scaffold derived from three-dimensional cell culture. *J Biomed Mater Res Part A* 2012; 100(9): 2507–2516, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34150>.
57. Zhou P., Huang Y., Guo Y., Wang L., Ling C., Guo Q., Wang Y., Zhu S., Fan X., Zhu M., Huang H., Lu Y., Wang Z. Decellularization and recellularization of rat livers with hepatocytes and endothelial progenitor cells. *Artif Organs* 2016; 40(3): E25–E38, <https://doi.org/10.1111/aor.12645>.
58. Guyette J.P., Gilpin S.E., Charest J.M., Tapias L.F., Ren X., Ott H.C. Perfusion decellularization of whole organs. *Nat Protoc* 2014; 9(6): 1451–1468, <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.097>.
59. Lee H., Han W., Kim H., Ha D.H., Jang J., Kim B.S., Cho D.W. Development of liver decellularized extracellular matrix bioink for three-dimensional cell printing-based liver tissue engineering. *Biomacromolecules* 2017; 18(4): 1229–1237, <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b01908>.
60. Skardal A., Devarasetty M., Kang H.W., Mead I., Bishop C., Shupe T., Lee S.J., Jackson J., Yoo J., Soker S., Atala A. A hydrogel bioink toolkit for mimicking native tissue biochemical and mechanical properties in bioprinted tissue constructs. *Acta Biomater* 2015; 25: 24–34, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.07.030>.
61. Gungor-Ozkerim P.S., Inci I., Zhang Y.S., Khademhosseini A., Dokmeci M.R. Bioinks for 3D bioprinting: an overview. *Biomater Sci* 2018; 6(5): 915–946, <https://doi.org/10.1039/c7bm00765e>.
62. Ahn G., Min K.H., Kim C., Lee J.S., Kang D., Won J.Y., Cho D.W., Kim J.Y., Jin S., Yun W.S., Shim J.H. Precise stacking of decellularized extracellular matrix based 3D cell-laden constructs by a 3D cell printing system equipped with heating modules. *Sci Rep* 2017; 7(1): 8624, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09201-5>.
63. Hennessy R.S., Jana S., Tefft B.J., Helder M.R., Young M.D., Hennessy R.R., Stoyles N.J., Lerman A. Supercritical carbon dioxide-based sterilization of decellularized heart valves. *JACC Basic Transl Sci* 2017; 2(1): 71–84, <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2016.08.009>.
64. Helder M.R.K., Hennessy R.S., Spoon D.B., Tefft B.J., Witt T.A., Marler R.J., Pislaru S.V., Simari R.D., Stulak J.M., Lerman A. Low-dose gamma irradiation of decellularized heart valves results in tissue injury in vitro and in vivo. *Ann Thorac Surg* 2016; 101(2): 667–674, <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2015.07.080>.
65. Bernhardt A., Wehrl M., Paul B., Hochmuth T., Schumacher M., Schütz K., Gelinsky M. Improved sterilization of sensitive biomaterials with supercritical carbon dioxide at low temperature. *PLoS One* 2015; 10(6): e0129205, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129205>.
66. Dearth C.L., Keane T.J., Carruthers C.A., Reing J.E., Huleihel L., Ranallo C.A., Kollar E.W., Badylak S.F. The effect of terminal sterilization on the material properties and in vivo remodeling of a porcine dermal biologic scaffold. *Acta Biomater* 2016; 33: 78–87, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.01.038>.
67. Gilpin A., Yang Y. Decellularization strategies for regenerative medicine: from processing techniques to applications. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 9831534, <https://doi.org/10.1155/2017/9831534>.
68. Fu R.H., Wang Y.C., Liu S.P., Shih T.R., Lin H.L., Chen Y.M., Sung J.H., Lu C.H., Wei J.R., Wang Z.W., Huang S.J., Tsai C.H., Shyu W.C., Lin S.Z. Decellularization and recellularization technologies in tissue engineering. *Cell Transplant* 2014; 23(4–5): 621–630, <https://doi.org/10.3727/096368914x678382>.
69. Sabetkish S., Kajbafzadeh A.M., Sabetkish N., Khorramirouz R., Akbarzadeh A., Seyedian S.L., Pasalar P., Orangian S., Beigi R.S., Aryan Z., Akbari H., Tavangar S.M. Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix liver scaffolds. *J Biomed Mater Res A* 2015; 103(4): 1498–1508, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35291>.
70. De Santis M.M., Alsafadi H.N., Tas S., Bölükbas D.A., Prithiviraj S., Da Silva I.A.N., Mittendorfer M., Ota C., Stegmayr J.N., Daoud F., Königshoff M., Swärd K., Wood J.A., Tassieri M., Bourguin P.E., Lindstedt S., Mohlin S., Wagner D.E. Extracellular-matrix-reinforced bioinks for 3D bioprinting human tissue. *Adv Mater* 2021; 33(3): e2005476, <https://doi.org/10.1002/adma.202005476>.
71. Hussey G.S., Dziki J.L., Badylak S.F. Extracellular matrix-based materials for regenerative medicine. *Nat Rev Mater* 2018; 3(7): 159–173, <https://doi.org/10.1038/s41578-018-0023-x>.
72. Assmann A., Delfs C., Munakata H., Schiffer F., Horstkötter K., Huynh K., Barth M., Stoldt V.R., Kamiya H., Boeken U., Lichtenberg A., Akhyari P. Acceleration of autologous in vivo recellularization of decellularized aortic conduits by fibronectin surface coating. *Biomaterials* 2013; 34(25): 6015–6026, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.04.037>.



73. Quinn R.W., Hilbert S.L., Bert A.A., Drake B.W., Bustamante J.A., Fenton J.E., Moriarty S.J., Neighbors S.L., Lofland G.K., Hopkins R.A. Performance and morphology of decellularized pulmonary valves implanted in juvenile sheep. *Ann Thorac Surg* 2011; 92(1): 131–137, <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.03.039>.
74. Tudorache I., Theodoridis K., Baraki H., Sarikouch S., Bara C., Meyer T., Höffler K., Hartung D., Hilfiker A., Haverich A., Cebotari S. Decellularized aortic allografts versus pulmonary autografts for aortic valve replacement in the growing sheep model: haemodynamic and morphological results at 20 months after implantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2015; 49(4): 1228–1238, <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezv362>.
75. Etnel J.R.G., Suss P.H., Schnorr G.M., Veloso M., Colatusso D.F., Balbi Filho E.M., Costa F.D.A.D. Fresh decellularized versus standard cryopreserved pulmonary allografts for right ventricular outflow tract reconstruction during the Ross procedure: a propensity-matched study. *Eur J Cardiothorac Surg* 2018; 54(3): 434–440, <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezy079>.
76. Edgar L., Altamimi A., García Sánchez M., Tamburrinia R., Asthana A., Gazia C., Orlando G. Utility of extracellular matrix powders in tissue engineering. *Organogenesis* 2018; 14(4): 172–186, <https://doi.org/10.1080/15476278.2018.1503771>.
77. Abaci A., Guvendiren M. Designing decellularized extracellular matrix-based bioinks for 3D bioprinting. *Adv Healthc Mater* 2020; 9(24): e2000734, <https://doi.org/10.1002/adhm.202000734>.
78. Visscher D.O., Bos E.J., Peeters M., Kuzmin N.V., Groot M.L., Helder M.N., van Zuijlen P.P.M. Cartilage tissue engineering: preventing tissue scaffold contraction using a 3D-printed polymeric cage. *Tissue Eng Part C Methods* 2016; 22(6): 573–584, <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2016.0073>.
79. Reing J.E., Brown B.N., Daly K.A., Freund J.M., Gilbert T.W., Hsiong S.X., Huber A., Kullas K.E., Tottey S., Wolf M.T., Badylak S.F. The effects of processing methods upon mechanical and biologic properties of porcine dermal extracellular matrix scaffolds. *Biomaterials* 2010; 31(33): 8626–8633, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.07.083>.
80. Badylak S.F., Freytes D.O., Gilbert T.W. Reprint of: Extracellular matrix as a biological scaffold material: structure and function. *Acta Biomater* 2015; 23: S17–S26, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.07.016>.
81. Murphy S.V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol* 2014; 32(8): 773–785, <https://doi.org/10.1038/nbt.2958>.
82. Kesti M., Eberhardt C., Pagliccia G., Kenkel D., Grande D., Boss A., Zenobi-Wong M. Bioprinting complex cartilaginous structures with clinically compliant biomaterials. *Adv Funct Mater* 2015; 25(48): 7406–7417, <https://doi.org/10.1002/adfm.201570305>.
83. Hospodiuk M., Dey M., Sosnoski D., Ozbolat I.T. The bioink: a comprehensive review on bioprintable materials. *Biotechnol Adv* 2017; 35(2): 217–239, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.12.006>.
84. Zhang Y., Zhou D., Chen J., Zhang X., Li X., Zhao W., Xu T. Biomaterials based on marine resources for 3D bioprinting applications. *Mar Drugs* 2019; 17(10): 555, <https://doi.org/10.3390/md17100555>.
85. Аргучинская Н.В., Бекетов Е.Е., Исаева Е.В., Сергеева Н.С., Шегай П.В., Иванов С.А., Каприн А.Д. Материалы для создания тканеинженерных конструкций методом 3D-биопечати при восстановлении хрящевой и мягких тканей. *Вестник трансплантологии и искусственных органов* 2021; 23(1): 60–74, <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2021-1-60-74>.
- Аргучинская Н.В., Бекетов Е.Е., Исаева Е.В., Сергеева Н.С., Шегай П.В., Иванов С.А., Каприн А.Д. Materials for creating tissue-engineered constructs using 3D bioprinting: cartilaginous and soft tissue restoration. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov* 2021; 23(1): 60–74, <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2021-1-60-74>.
86. Jang J., Kim T.G., Kim B.S., Kim S.W., Kwon S.M., Cho D.W. Tailoring mechanical properties of decellularized extracellular matrix bioink by vitamin B2-induced photocrosslinking. *Acta Biomater* 2016; 33: 88–95, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.01.013>.
87. Das S., Kim S.W., Choi Y.J., Lee S., Lee S.H., Kong J.S., Park H.J., Cho D.W., Jang J. Decellularized extracellular matrix bioinks and the external stimuli to enhance cardiac tissue development in vitro. *Acta Biomater* 2019; 95: 188–200, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.04.026>.
88. Won J.Y., Lee M.H., Kim M.J., Min K.H., Ahn G., Han J.S., Jin S., Yun W.S., Shim J.H. A potential dermal substitute using decellularized dermis extracellular matrix derived bio-ink. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2019; 47(1): 644–649, <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1575842>.
89. Mao Q., Wang Y., Li Y., Juengpanich S., Li W., Chen M., Yin J., Fu J., Cai X. Fabrication of liver microtissue with liver decellularized extracellular matrix (dECM) bioink by digital light processing (DLP) bioprinting. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2020; 109: 110625, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110625>.
90. Shin Y.J., Shafraneck R.T., Tsui J.H., Walcott J., Nelson A., Kim D.H. 3D bioprinting of mechanically tuned bioinks derived from cardiac decellularized extracellular matrix. *Acta Biomater* 2021; 119: 754–788, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.11.006>.
91. Yu C., Ma X., Zhu W., Wang P., Miller K.L., Stupin J., Koroleva-Maharajh A., Hairabedian A., Chen S. Scanningless and continuous 3D bioprinting of human tissues with decellularized extracellular matrix. *Biomaterials* 2019; 194: 1–13, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.12.009>.
92. Beck E.C., Barragan M., Tadros M.H., Gehrke S.H., Detamore M.S. Approaching the compressive modulus of articular cartilage with a decellularized cartilage-based hydrogel. *Acta Biomater* 2016; 38: 94–105, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.04.019>.
93. Zhang X., Liu Y., Luo C., Zhai C., Li Z., Zhang Y., Yuan T., Dong S., Zhang J., Fan W. Crosslinker-free silk/decellularized extracellular matrix porous bioink for 3D bioprinting-based cartilage tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2021; 118: 111388, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111388>.
94. Kim M.K., Jeong W., Lee S.M., Kim J.B., Jin S., Kang H.W. Decellularized extracellular matrix-based bio-ink with enhanced 3D printability and mechanical properties. *Biofabrication* 2020; 12(2): 025003, <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab5d80>.
95. Visscher D.O., Lee H., van Zuijlen P.P.M., Helder M.N., Atala A., Yoo J.J., Lee J.S. A photo-crosslinkable cartilage-derived extracellular matrix bioink for auricular cartilage tissue engineering. *Acta Biomater* 2021; 121: 193–203, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.11.029>.



96. Sood D., Chwalek K., Stuntz E., Pouli D., Du C., Tang-Schomer M., Georgakoudi I., Black L.D. III, Kaplan D.L. Fetal brain extracellular matrix boosts neuronal network formation in 3D bioengineered model of cortical brain tissue. *ACS Biomater Sci Eng* 2016; 2(1): 131–140, <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.5b00446>.
97. Nyambat B., Manga Y.B., Chen C.H., Gankhuyag U., Pratomo Wp A., Kumar Satapathy M., Chuang E.Y. New insight into natural extracellular matrix: genipin cross-linked adipose-derived stem cell extracellular matrix gel for tissue engineering. *Int J Mol Sci* 2020; 21(14): 4864, <https://doi.org/10.3390/ijms21144864>.
98. Nagao R.J., Xu J., Luo P., Xue J., Wang Y., Kotha S., Zeng W., Fu X., Himmelfarb J., Zheng Y. Decellularized human kidney cortex hydrogels enhance kidney microvascular endothelial cell maturation and quiescence. *Tissue Eng Part A* 2016; 22(19–20): 1140–1150, <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2016.0213>.
99. Jang J., Park H.J., Kim S.W., Kim H., Park J.Y., Na S.J., Kim H.J., Park M.N., Choi S.H., Park S.H., Kim S.W., Kwon S.M., Kim P.J., Cho D.W. 3D printed complex tissue construct using stem cell-laden decellularized extracellular matrix bioinks for cardiac repair. *Biomaterials* 2017; 112: 264–274, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.10.026>.
100. Pati F., Jang J., Ha D.H., Won Kim S., Rhee J.W., Shim J.H., Kim D.H., Cho D.W. Printing three-dimensional tissue analogues with decellularized extracellular matrix bioink. *Nat Commun* 2014; 5: 3935, <https://doi.org/10.1038/ncomms4935>.
101. Pati F., Cho D.W. Bioprinting of 3D tissue models using decellularized extracellular matrix bioink. *Methods Mol Biol* 2017; 1612: 381–390, [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7021-6\\_27](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7021-6_27).
102. Almeida H.V., Eswaramoorthy R., Cuniffe G.M., Buckley C.T., O'Brien F.J., Kelly D.J. Fibrin hydrogels functionalized with cartilage extracellular matrix and incorporating freshly isolated stromal cells as an injectable for cartilage regeneration. *Acta Biomater* 2016; 36: 55–62, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.03.008>.
103. Chang C.H., Chen C.C., Liao C.H., Lin F.N., Hsu Y., Fang H.W. Human acellular cartilage matrix powders as a biological scaffold for cartilage tissue engineering with synovium-derived mesenchymal stem cells. *J Biomed Mater Res A* 2014; 102(7): 2248–2257, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34897>.
104. Yin H., Wang Y., Sun Z., Sun X., Xu Y., Li P., Meng H., Yu X., Xiao B., Fan T., Wang Y., Xu W., Wang A., Guo Q., Peng J., Lu S. Induction of mesenchymal stem cell chondrogenic differentiation and functional cartilage microtissue formation for in vivo cartilage regeneration by cartilage extracellular matrix-derived particles. *Acta Biomater* 2016; 33: 96–109, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.01.024>.
105. Rothrauff B.B., Shimomura K., Gottardi R., Alexander P.G., Tuan R.S. Anatomical region-dependent enhancement of 3-dimensional chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by soluble meniscus extracellular matrix. *Acta Biomater* 2017; 49: 140–151, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.11.046>.
106. Toprakhisar B., Nadermezhad A., Bakirci E., Khani N., Skvortsov G.A., Koc B. Development of bioink from decellularized tendon extracellular matrix for 3D bioprinting. *Macromol Biosci* 2018; 18(10): e1800024, <https://doi.org/10.1002/mabi.201800024>.
107. Zhao F., Cheng J., Sun M., Yu H., Wu N., Li Z., Zhang J., Li Q., Yang P., Liu Q., Hu X., Ao Y. Digestion degree is a key factor to regulate the printability of pure tendon decellularized extracellular matrix bio-ink in extrusion-based 3D cell printing. *Biofabrication* 2020; 12(4): 045011, <https://doi.org/10.1088/1758-5090/aba411>.
108. Perez-Valle A., Del Amo C., Andia I. Overview of current advances in extrusion bioprinting for skin applications. *Int J Mol Sci* 2020; 21(18): 6679, <https://doi.org/10.3390/ijms21186679>.
109. Zuo H., Peng D., Zheng B., Liu X., Wang Y., Wang L., Zhou X., Liu J. Regeneration of mature dermis by transplanted particulate acellular dermal matrix in a rat model of skin defect wound. *J Mater Sci Mater Med* 2012; 23(12): 2933–2944, <https://doi.org/10.1007/s10856-012-4745-9>.
110. Kim H., Park M.N., Kim J., Jang J., Kim H.K., Cho D.W. Characterization of cornea-specific bioink: high transparency, improved in vivo safety. *J Tissue Eng* 2019; 10: 2041731418823382, <https://doi.org/10.1177/2041731418823382>.
111. Young D.A., Ibrahim D.O., Hu D., Christman K.L. Injectable hydrogel scaffold from decellularized human lipoaspirate. *Acta Biomater* 2011; 7(3): 1040–1049, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.09.035>.
112. Thitiset T., Damrongsakkul S., Bunaprasert T., Leeansaksiri W., Honsawek S. Development of collagen/demineralized bone powder scaffolds and periosteum-derived cells for bone tissue engineering application. *Int J Mol Sci* 2013; 14(1): 2056–2071, <https://doi.org/10.3390/ijms14012056>.
113. Lee H.J., Kim Y.B., Ahn S.H., Lee J.S., Jang C.H., Yoon H., Chun W., Kim G.H. A new approach for fabricating collagen/ECM-based bioinks using preosteoblasts and human adipose stem cells. *Adv Healthc Mater* 2015; 4(9): 1359–1368, <https://doi.org/10.1002/adhm.201500193>.
114. Zhang X., Dong J. Direct comparison of different coating matrix on the hepatic differentiation from adipose-derived stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 456(4): 938–944, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.11.004>.
115. Barthold J.E., St. Martin B.M., Sridhar S.L., Vernerey F., Schneider S.E., Wacquez A., Ferguson V.L., Calve S., Neu C.P. Recellularization and integration of dense extracellular matrix by percolation of tissue microparticles. *Adv Funct Mater* 2021; 31(35): 2103355, <https://doi.org/10.1002/adfm.202103355>.
116. Cheung H.K., Han T.T., Marecak D.M., Watkins J.F., Amsden B.G., Flynn L.E. Composite hydrogel scaffolds incorporating decellularized adipose tissue for soft tissue engineering with adipose-derived stem cells. *Biomaterials* 2014; 35(6): 1914–1923, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.11.067>.
117. French K.M., Boopathy A.V., DeQuach J.A., Chingozha L., Lu H., Christman K.L., Davis M.E. A naturally derived cardiac extracellular matrix enhances cardiac progenitor cell behavior in vitro. *Acta Biomater* 2012; 8(12): 4357–4364, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.07.033>.
118. Bonandrini B., Figliuzzi M., Papadimou E., Morigi M., Perico N., Casiraghi F., Dipl C., Sangalli F., Conti S., Benigni A., Remuzzi A., Remuzzi G. Recellularization of well-preserved acellular kidney scaffold using embryonic stem cells. *Tissue Eng Part A* 2014; 20(9–10): 1486–1498, <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2013.0269>.
119. Daly A.B., Wallis J.M., Borg Z.D., Bonvillain R.W., Deng B., Ballif B.A., Jaworski D.M., Allen G.B., Weiss D.J. Initial binding and recellularization of decellularized mouse lung scaffolds with bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Tissue Eng Part A* 2012; 18(1–2): 1–16, <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0301>.