

Usage of Biosilica Derived from Marine Natural Sponges for Tissue Engineering

Bahar Akyüz Yılmaz[✉], Murat Kaya^{*✉}

Aksaray University, Molecular Biology and Genetics Department, Aksaray, Türkiye

Keywords

Biosilica, Tissue Damage,
Biomaterial, Tissue Engineering

Article information

Received: Jun 14, 2023

Revised: Jun 19, 2023

Accepted: Jun 21, 2023

Online: Aug 14, 2023

Abstract

Due to the toxicity, low biocompatibility, and high cost of traditionally used materials, using bio-based materials for bone tissue applications has been very popular in recent years. In particular, biosilica is the most well-known of these materials. There are 31 invertebrate species around the World, and Porifera (Sponges) is one of the invertebrates that contain a high amount of biosilica in its structure. In this study, recent studies on the use of marine sponges for the treatment of bone tissue damage are summarized. As a result, it is predicted that bio-based silica will be widely used for tissue damage and repair in the biomedical field soon due to its natural 3D scaffold structure, hydroxyapatite formation, mineralization, and proliferation-enhancing properties.

doi: [10.29002/asujse.1314603](https://doi.org/10.29002/asujse.1314603)

Denizel Doğal Süngerlerden Elde Edilen Biyosilikanın Doku Mühendisliğinde Kullanımı

Anahtar Kelimeler

Biyosilika, Doku Hasarı,
Biyomalzeme, Doku Mühendisliği

Özet

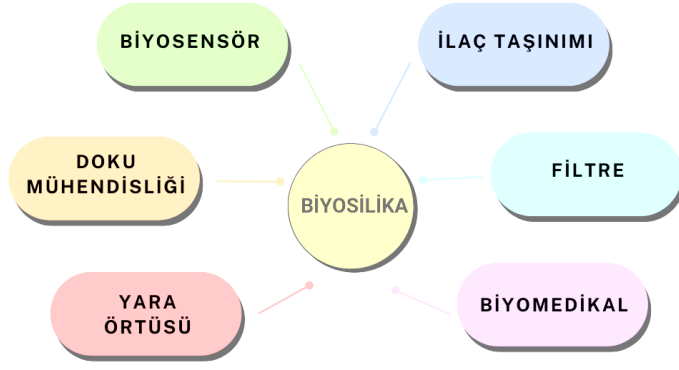
Geleneksel olarak kullanılan malzemelerin, toksik olması, düşük biyouyumluluğu ve yüksek maliyetinden dolayı biyolojik temelli materyallerin kemik doku uygulamaları için kullanımı son yıllarda oldukça rağbet görmektedir. Özellikle biyosilika bu malzemelerin en bilinenidir. Dünya genelinde 31 omurgasız canlı türü vardır ve Porifera (Süngerler) yapısında yüksek miktarda biyosilika içeren omurgasız canlılardan biridir. Bu çalışmada denizel süngerlerin kemik doku hasarı tedavisi amaçlı kullanımı üzerine son yıllarda gerçekleştirilmiş çalışmalar özetlenmiştir. Sonuç olarak, biyolojik temelli olan silikanın doku hasarını giderimi için doğal 3 boyutlu iskele yapısı, hidroksiapatit oluşumu, minarelleşme ve proliferasyonu artırıcı özelliklerinden dolayı yakın zamanda biyomedikal alanda yaygın olarak kullanılacağı öngörülmektedir.

1. GİRİŞ

Deniz biyoçeşitliliği, biyoteknolojik yeni ürünlerin geliştirilmesi için vazgeçilmez bir ekosistemdir. Bunların arasında ise deniz süngerleri, en az 580 milyon yıl öncesine dayanan Porifera filumu (Deniz süngerleri) önemli yer tutmaktadır. Deniz süngerlerinden elde edilen moleküllerin, antitümör, antiviral, anti-inflamatuar ve antibiyotik etkileri nedeniyle geniş bir uygulama yelpazesinde yüksek potansiyele sahip olduğu bilinmektedir [1]. Şekil 1'de denizel süngerlerden elde edilen biyosilikanın kullanım alanları verilmiştir. Bu çalışma ile özellikle deniz süngerlerinin kemik doku mühendisliği uygulamaları için kullanım alanları hakkında literatürde mevcut olan bilgileri gözden geçirmektedir. Deniz süngerlerini kemik doku yerine kullanılabilir kılan özelliklerden biri, yapısal özellikleridir. Çoğu türün etkili bir şekilde bağlantılı gözenekli bir mimarisi bulunmaktadır, bu da onların önemli miktarda suyu işlemelerine ve sıvı akışını kolaylaştırmalarına olanak tanımaktadır. Bu özelliğinden dolayı deniz süngerlerinin ideal bir kemik iskelesini taklit edebileceği görülmektedir. Ayrıca süngerler, dokunun yeniden oluşumu için yaygın olarak kullanılan doğal polimerlere de sahiptir. Doku mühendisliğinde önemli bir yere sahip olan deniz süngerlerinin mineral içeriği, biyosilika ve diğer bileşikler gibi hücre büyümesini destekleme, kemik oluşumu ve mineralleşmeyi uyaran özellikleri de araştırılmaktadır. Bu çalışma ile doğal denizel süngerlerden elde edilen biyosilikaya biyoteknolojik bakış açısı yaklaşımıyla son yıllarda yapılan çalışmaların kemik doku mühendisliğindeki önemi ortaya konulmuştur. Ayrıca yapılan bu derleme çalışması ile doğada bol bulunan, denizel ekosistemde yaşayan süngerlerin biyoteknolojik bir malzemeye dönüştürülmesinin önemine dikkat çekilmek istenmiştir.

*Corresponding Author: •muratkaya3806@yahoo.com  0000-0001-6954-2703





Şekil 1. Denizel süngerlerden izole edilen biyosilikaların kullanım alanları

2. KEMİK DOKU HASARLARI

Osteokondral hasarlar, genel olarak hastalık, travma, yaşlılık veya kıkırdak dejenerasyonu sonucu ortaya çıkan, her yaşta sakatlığa sebep olabilen ve hastaların yaşam kalitesini etkileyen yaygın bir eklem hastalığıdır [2, 3]. Osteokondral doku farklı iyileşme kapasitesine, fizyolojisine ve morfolojisine sahip dokuların bir arada bulunması (eklem kıkırdağı, kalsifiye kıkırdak fazı ve subkondral kemik) ve bu dokuların aynı anda hasar görmüş olması tedavide karşılaşılan en önemli zorluklardandır. Bu sebeple, osteokondral hasarların tedavileri karmaşıktır. Uygun tedavi yapılamadığı için, genellikle eklem fonksiyonunu ve yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileyen osteoartrit gibi dejeneratif eklem hastalıkları gelişebilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından dünya çapında 240 milyon insanı, 60 yaşın üzerindeki erkeklerin yaklaşık %10'unu ve kadınların ise %18'ini etkileyen bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir [4, 5]. Osteokondral lezyonların iyileştirilmesine ekonomik açıdan bakıldığında yüksek maliyetler harcandığı ve bunun sonucunda tam iyileşmenin de gerçekleşmediği görülmektedir. Avrupa Sağlık Sistemleri osteokondral lezyonların tedavisinin yıllık maliyeti yaklaşık olarak 50.4 milyar Euro olduğunu bildirmiştir [6, 7]. Osteokondral defektlerde kullanılan mevcut klinik yöntemler; mikro kırık (mezenkimal kök hücrelerin hasarlı bölgeye göçü), otogreft transplantasyon/mozaioplasti (hastanın kendisinden alınan), allogreft transplantasyon (başka bir bireyden alınan) ve otolog kondrosit implantasyonu (ACI) ve matris-temelli kondrosit implantasyonu (MACI) olarak örneklendirilebilmektedir [8, 9]. Örneğin, mikrokırık prosedürü sırasında kemik iliği stimülasyonu ile hiyalin kıkırdaktan ziyade fibröz doku oluşumu, kıkırdak ile karşılaştırıldığında çok daha düşük biyolojik ve mekanik özelliklerle sonuçlanmaktadır [10, 11]. Osteokondral otogreftler veya mozaioplasti genellikle daha iyi sonuçlara sahip olsa da bu prosedürlerin donör doku mevcudiyeti, topoloji uyumsuzluğu ve donör bölgesi morbiditesi uygulanabilirliğinde sınırlayıcı faktörlerdendir [12]. ACI ve MACI, uzun vadede olumlu sonuçlar gösteren hücre bazlı tedavi yöntemleri olsalar da doğal dokunun özelliklerini tam olarak yeniden üretmedikleri yapılan çalışmalar ile ortaya koyulmuştur [13, 14]. Ayrıca klinikte kullanılan FDA onaylı bir diğer yöntem olan kemik morfogenetik proteinler, yüksek maliyet, yüksek doz ihtiyacı ve olumsuz yan etkiler nedeniyle kullanımlarını sınırlamaktadır. Mevcut klinikte kullanılan bir diğer yöntem olan hyaluronik asit temelli kıkırdak yamalarının uzun sürede iyileşme ve kondrosit olgunlaşmasının uzun sürmesi gibi zorlukları bulunmaktadır [15]. Tüm tedavi yöntemlerinde karşılaşılan zorlukların üstesinden gelmek için osteokondral hasarların tedavisinde, dokunun karmaşıklığını taklit edebilen biyomalzemelerin bir araya gelmesiyle dokuların rejenerasyonunu sağlayabilecek iskelelerinin tasarlanması son yıllarda önem kazanmıştır.

Kemik, kıkırdak ve osteokondral doku mühendisliğinde kullanılacak iskelelerin ideal özellikleri;

- (i) *in vitro* doku kültüründen sonra, yerini alacak doku ile biyouyumlu olması ve mekanik destek sağlaması,
- (ii) hücre tutunması ve çoğalmasını teşvik etmesi,
- (iii) besin ile gaz difüzyonuna izin veren gözenekli morfolojiye sahip olması,
- (iv) vücut tarafından kolaylıkla emilebilen ya da kolaylıkla atılabilen toksik olmayan malzemelerden üretilmesi olarak sıralanabilmektedir [16].

3. BİYOSİLİKA

Silika, kemik ve kıkırdak dokularının büyümesi ve oluşumu için silisyum içeren önemli bir kimyasal bileşiktir [17]. Biyosilika, organik bir matrise gömülüdür ve memeli hücreler için toksik değildir. Biyolojik uyumlarından dolayı doku mühendisliğinde kullanımları ön plana çıkarmaktadır. Deniz süngerlerinden elde edilen biyosilikalar, biyomedikal yaklaşımlar, kemik yer değiştirme ve rejenerasyon stratejileri için, kemik oluşumunu uyardırmada önemli bir rol oynayan silika iyonları içerdiklerinden dolayı önemlidir. Ayrıca biyosilikanın, hidroksiapatit oluşumu için gerekli kalsiyum fosfatı

biriktirecek mineralleşmeyi artırdığı ve bunun sonucunda insan kemik dokularının rejenerasyonu için yeni biyomateriyallerin geliştirilmesinde kullanılmasına ilham verdiği bildirilmiştir [18, 19]. Biyolojik olarak aktif silika camları, silika jel tabakası oluşturarak kemik dokusuyla bağlanmakta ve entegre olmaktadır, bu da osteoprogenitör hücrelerinin çoğalmasını ve osteoblastlara farklılaşmasını uyararak kemik organik matris ve mineralizasyonun sentezini ve birikimini başlatmaktadır. Bu bağlamda, bazı araştırmacılar, deniz süngerlerinden elde edilen biyosilikaların biyolojik uyumluluğunu incelemek için *in vitro* çalışmalar yapmışlardır. SaOS-2 hücrelerinin kalsiyum mineral içeriğinde belirgin bir artışa neden olan protein kaplı bir yüzeyde biyosilikanın birikimini göstermişlerdir. Bu sonuçlar, kalsiyum fosfat birikimini *in vitro* destekleyerek, biyosilika ile modifiye edilmiş yüzeylerin *in vivo* olarak potansiyel biyoaktif olabileceğini ve osteoblast mineralizasyon fonksiyonunu uyarabileceğini önermişlerdir [20]. Biyosilikalar doğası gereği düşük mukavemete sahip olmasına rağmen biyoyumlu olması, kemik dokusu yapıcı genlerin ekspresyonunu aktive etmesi ve damarlaşmayı teşvik etmesi gibi eşsiz özelliklere sahip olmasından dolayı doku mühendisliği için iyi bir iskele malzemesi olduğu düşünülmektedir [21-23].

4. BİYOSİLİKANIN KEMİK DOKU HASARLARINDA BİYOTEKNOLOJİK OLARAK KULLANIMI

Biyosilikalar, kitosan ve kolajen gibi biyopolimerler ile kompozit oluşturarak mekanik özellikleri iyileştirilebilmektedir. Yapılan çalışmalarda kitosan/biyosilika kompozitin apatit tabakasını oluşturma konusunda mükemmel bir yeteneğe sahip olduğu belirlenmiştir [24]. Fakat bu çalışmalarda genellikle 45S5 gibi ticari biyocamlar kullanılmakta ve genellikle yüksek sıcaklıklara (yaklaşık olarak 700 °C) maruz bırakılarak iskeleler oluşturulmaktadır. Ayrıca biyosilika temelli cam fiber üretimi yapabilmek için lazer eğirme, elektro-eğirme gibi cihazlar yardımıyla bir seri işlemler sonucunda üretilmesinin gerekliliğinin yanı sıra kimyasal işlemlere tabi tutulması ve optimizasyonun zor olması üretilebilirliklerini sınırlamaktadır [25, 26]. Doğadaki canlıların silika temelli malzemeler ürettiği bilinmektedir ve bu canlıların ürettiği malzemelerin “doğadan teknolojik ürünlere dönüştürülme”sine ilgi son yıllarda artmıştır. Deniz süngerlerinin yapılarında spikül denilen biyojenik silikalar bulunmaktadır ve ayrıca iskelet yapılarının nano boyuttan makro boyuta hiyerarşik olarak düzenlenen mimari yapıları yönüyle dikkat çekicidir [27-29]. Süngerlerin iskelet yapıları inorganik (biyosilika veya hidroksiapatit) ve organik bileşenlerden oluşmakta ve bu yapıların insan anatomik kemik yapılarına benzer özelliklere sahip olduğu yapılan çalışmalar ile desteklenmiştir [30, 31]. Porifera türlerinden biri olan *Geodia barretti* gibi Kuzey Atlantik deniz sünger türlerinin önemli hasarlardan sonra vücut duvarının kendini olağanüstü bir şekilde rejenerasyon kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir [32]. Bu rejenerasyon kapasitesi göz önünde bulundurularak biyomimetik stratejilerin gelişmesine, hiyerarşik düzenlerinin ve ürettikleri bileşiklerin detaylı olarak araştırılmasına, geliştirilmesine zemin hazırlamaktadır. Farklı bir Demosponge olan *Ianthella basta* ve *Aplysina sp.*, kondrojenik, adipojenik ve osteojenik farklılaşma yeteneğine de sahip olmasından dolayı umut verici bir kök hücre temelli iskele olabileceğini göstermiştir [33]. Ayrıca daha yüksek mekanik özelliklere sahip kemik dokuda kullanılmak üzere iskeleler elde etmek için farklı bir tür olan *Spongia agaricina*’ dan hazırlanan biyosilika temelli iskelelerin kemik dokuya benzer mekanik özellik sergilediği belirlenmiştir [34, 35]. *Geodia macandrewii*’ nin korteks yapısında gözenekli yapıya sahip biyosilika makro küreler izole etmişlerdir. Bu küreler biyoyumlu ve osteojenik özelliklere sahip olmasından dolayı kemik doku mühendisliğinde ve ilaç taşımada olumlu sonuçlar gösterdiğini ortaya koymuşlardır [31].

5. SONUÇ

Literatürde yapılan son çalışmalara bakıldığında, deniz süngerleri ve/veya onlardan izole edilmiş biyosilikalar, iyi osteojenik performans, özellikle *in vitro* testler sırasında, kemik yaralanmalarının tedavisi için umut verici bir alternatif oluşturabilecek kemik hasarlarını tedavi edici biyomalzemelerinin geliştirilmesine yönelik yeni çalışmaların yapılmasını teşvik etmektedir. Bu çalışma ile, uygun yapı ve kompozisyonları nedeniyle deniz süngerlerinin kemik doku mühendisliği alanında yenilikçi kullanımına ait bilgiler sunulmuştur. Burada sunulan çalışmalarda, farklı deniz süngerlerinin uygun porozite, yüzey kimyası, *in vitro* stabilite ve sitotoksisite olmaksızın hücre büyümesini indükleyebilme özelliklerine sahip olduğunu gösteren çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Süngerlerin güvenlik ve biyolojik performansının daha fazla araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Tüm sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, doğal biyoteknolojik ürünlerin geliştirilmesinin önem arz ettiği detaylı olarak incelenen bu çalışmalarda belirlenmiştir. Ayrıca biyosilikanın yakın zamanda kemik doku hasarı giderimi için vazgeçilmez bir biyomalzeme olacağı öngörülmektedir.

Kaynaklar

- [1] van Soest, R.W., Hooper, J.N. (Eds.) (2002). *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*, New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- [2] Savage-Elliott, I., Ross, K.A., Smyth, N.A., Murawski, C.D., Kennedy, J.G. (2014). *Osteochondral lesions of the talus: a current concepts review and evidence-based treatment paradigm*, Foot & ankle specialist, 7(5), 414-422.

- [3] Qiao, Z., Lian, M., Han, Y., Sun, B., Zhang, X., Jiang, W., Li, H., Hao, Y., Dai, K. (2021). *Bioinspired stratified electrowritten fiber-reinforced hydrogel constructs with layer-specific induction capacity for functional osteochondral regeneration*, *Biomaterials*, 266, 120385.
- [4] Mandl, L. (2019). *Osteoarthritis year in review 2018: clinical*, *Osteoarthritis and cartilage*, 27(3), 359-364.
- [5] Tamaddon, M., Gilja, H., Wang, L., Oliveira, J.M., Sun, X., Tan, R., Liu, C. (2020). *Osteochondral scaffolds for early treatment of cartilage defects in osteoarthritic joints: from bench to clinic*, *Biomaterials Translational*, 1(1), 3-17.
- [6] Hilgsmann, M., Reginster, J. (2013). *The economic weight of osteoarthritis in Europe*, *Medicographia*, 35(1), 197-202.
- [7] Pareek, A., Sanders, T.L., Wu, I.T., Larson, D.R., Saris, D.B., Krych, A.J. (2017). *Incidence of symptomatic osteochondritis dissecans lesions of the knee: a population-based study in Olmsted County*, *Osteoarthritis and Cartilage*, 25(10), 1663-1671.
- [8] Kon, E., Filardo, G., Di Martino, A., Marcacci, M. (2012). *ACI and MACI*, *The Journal of Knee Surgery*, 25(1), 17-22.
- [9] Thorp, H., Kim, K., Kondo, M., Maak, T., Grainger, D.W., Okano, T. (2021). *Trends in Articular Cartilage Tissue Engineering: 3D Mesenchymal Stem Cell Sheets as Candidates for Engineered Hyaline-Like Cartilage*, *Cells*, 10(3), 643.
- [10] Krych, A.J., Harnly, H.W., Rodeo, S.A., Williams III, R.J. (2012). *Activity levels are higher after osteochondral autograft transfer mosaicplasty than after microfracture for articular cartilage defects of the knee: a retrospective comparative study*, *JBJS*, 94(11), 971-978.
- [11] Gobbi, A., Lane, J.G., Dallo, I. (2020). *Editorial Commentary: Cartilage Restoration—What Is Currently Available?*, *Arthroscopy*, *The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, 36(6), 1625-1628.
- [12] Grayson, W.L., Chao, P.-H.G., Marolt, D., Kaplan, D.L., Vunjak-Novakovic, G. (2008). *Engineering custom-designed osteochondral tissue grafts*, *Trends in Biotechnology*, 26(4), 181-189.
- [13] Harris, J.D., Siston, R., Brophy, R., Lattermann, C., Carey, J., Flanigan, D. (2011). *Failures, re-operations, and complications after autologous chondrocyte implantation—a systematic review*, *Osteoarthritis and Cartilage*, 19(7), 779-791.
- [14] Gobbi, A., Whyte, G.P. (2019). *Long-term clinical outcomes of one-stage cartilage repair in the knee with hyaluronic acid-based scaffold embedded with mesenchymal stem cells sourced from bone marrow aspirate concentrate*, *The American Journal of Sports Medicine*, 47(7), 1621-1628.
- [15] McNickle, A.G., Provencher, M.T., Cole, B.J. (2008). *Overview of existing cartilage repair technology*, *Sports Medicine and Arthroscopy Review*, 16(4), 196-201.
- [16] Ding, H., Cheng, Y., Niu, X., Hu, Y. (2020). *Application of Electrospun Nanofibers in Bone, Cartilage and Osteochondral Tissue Engineering*, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 32(4), 536-561.
- [17] Sripanyakorn, S., Jugdaohsingh, R., Thompson, R.P., Powell, J.J. (2005). *Dietary silicon and bone health*, *Nutrition Bulletin*, 30(3), 222-230.
- [18] Müller, W.E., Boreiko, A., Wang, X., Krasko, A., Geurtsen, W., Custódio, M.R., Winkler, T., Lukić-Bilela, L., Link, T., Schröder, H.C. (2007). *Morphogenetic activity of silica and bio-silica on the expression of genes controlling biomineralization using SaOS-2 cells*, *Calcified tissue International*, 81(5), 382-393.
- [19] Tamburaci, S., Tihminlioglu, F. (2018). *Biosilica incorporated 3D porous scaffolds for bone tissue engineering applications*, *Materials Science and Engineering: C*, 91, 274-291.
- [20] Schröder, H.C., Boreiko, O., Krasko, A., Reiber, A., Schwertner, H. and Müller, W.E. (2005). *Mineralization of SaOS-2 cells on enzymatically (silicatein) modified bioactive osteoblast-stimulating surfaces*, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: 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*, 75(2), 387-392.

- [21] Shkarina, S., Shkarin, R., Weinhardt, V., Melnik, E., Vacun, G., Kluger, P.J., Loza, K., Epple, M., Ivlev, S.I., Baumbach, T. (2018). *3D biodegradable scaffolds of polycaprolactone with silicate-containing hydroxyapatite microparticles for bone tissue engineering: High-resolution tomography and in vitro study*, *Scientific Reports*, 8(1), 8907.
- [22] Naruphontjirakul, P., Tsigkou, O., Li, S., Porter, A.E., Jones, J.R. (2019). *Human mesenchymal stem cells differentiate into an osteogenic lineage in presence of strontium containing bioactive glass nanoparticles*, *Acta Biomaterialia*, 90, 373-392.
- [23] Shi, X., Nommeots-Nomm, A., Todd, N.M., Devlin-Mullin, A., Geng, H., Lee, P.D., Mitchell, C.A., Jones, J.R. (2020). *Bioactive glass scaffold architectures regulate patterning of bone regeneration in vivo*, *Applied Materials Today*, 20, 100770.
- [24] Wang, D., Romer, F., Connell, L., Walter, C., Saiz, E., Yue, S., Lee, P.D., McPhail, D.S., Hanna, J.V., Jones, J.R. (2015). *Highly flexible silica/chitosan hybrid scaffolds with oriented pores for tissue regeneration*, *Journal of Materials Chemistry B*, 3(38), 7560-7576.
- [25] Quintero, F., Pou, J., Comesaña, R., Lusquiños, F., Riveiro, A., Mann, A.B., Hill, R.G., Wu, Z.Y., Jones, J.R. (2009). *Laser spinning of bioactive glass nanofibers*, *Advanced Functional Materials*, 19(19), 3084-3090.
- [26] Riveiro, A., Amorim, S., Solanki, A., Costa, D.S., Pires, R.A., Quintero, F., del Val, J., Comesaña, R., Badaoui, A., Lusquiños, F. (2021). *Hyaluronic acid hydrogels reinforced with laser spun bioactive glass micro-and nanofibres doped with lithium*, *Materials Science and Engineering: C*, 126, 112124.
- [27] Clarke, J. (2003). *The occurrence and significance of biogenic opal in the regolith*, *Earth-Science Reviews*, 60(3-4), 175-194.
- [28] Aizenberg, J., Weaver, J.C., Thanawala, M.S., Sundar, V.C., Morse, D.E., Fratzl, P. (2005). *Skeleton of Euplectella sp.: structural hierarchy from the nanoscale to the macroscale*, *Science*, 309(5732), 275-278.
- [29] Martins, E., Rapp, H.T., Xavier, J.R., Diogo, G.S., Reis, R.L., Silva, T.H. (2021). *Macro and microstructural characteristics of north Atlantic deep-sea sponges as bioinspired models for tissue engineering scaffolding*, *Frontiers in Marine Science*, 7, 613647.
- [30] Granito, R.N., Custodio, M.R., Rennó, A.C.M. (2017). *Natural marine sponges for bone tissue engineering: The state of art and future perspectives*, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 105(6), 1717-1727.
- [31] Kaya, M., Bilican, I., Mujtaba, M., Sargin, I., Haskoylu, M.E., Oner, E.T., Zheng, K., Boccaccini, A.R., Cansaran-Duman, D., Onses, M.S. (2021). *Sponge-derived natural bioactive glass microspheres with self-assembled surface channel arrays opening into a hollow core for bone tissue and controlled drug release applications*, *Chemical Engineering Journal*, 407, 126667.
- [32] Murillo, F.J., Muñoz, P.D., Cristobo, J., Ríos, P., Gonzalez, C., Kenchington, E., Serrano, A. (2012). *Deep-sea sponge grounds of the Flemish Cap, Flemish Pass and the Grand Banks of Newfoundland (Northwest Atlantic Ocean): distribution and species composition*, *Marine Biology Research*, 8(9), 842-854.
- [33] Schubert, M., Binnewerg, B., Voronkina, A., Muzychka, L., Wysokowski, M., Petrenko, I., Kovalchuk, V., Tsurkan, M., Martinovic, R., Bechmann, N. (2019). *Naturally prefabricated marine biomaterials: isolation and applications of flat chitinous 3D scaffolds from Ianthella labyrinthus (Demospongiae: Verongiida)*, *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 5105.
- [34] Boccardi, E., Belova, I., Murch, G., Boccaccini, A., Fiedler, T. (2015). *Oxygen diffusion in marine-derived tissue engineering scaffolds*, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26, 1-9.
- [35] Clarke, S., Choi, S., McKechnie, M., Burke, G., Dunne, N., Walker, G., Cunningham, E., Buchanan, F. (2016). *Osteogenic cell response to 3-D hydroxyapatite scaffolds developed via replication of natural marine sponges*, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 27(2), 22.