

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
Dissertação será
disponibilizado somente a
partir de 31/05/2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

**Estudo *in vitro* do efeito isolado ou sinérgico do Ácido
Anacárdico no Câncer de Ovário e Pâncreas**

Juliana Trindade Caleffi

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Campus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Mestre no Programa
de Pós-Graduação em Biologia Geral e
Aplicada.*

Orientadora: Profa. Dra. Flávia Karina Delella

BOTUCATU – SP

2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

**Estudo *in vitro* do efeito isolado ou sinérgico do Ácido
Anacárdico no Câncer de Ovário e Pâncreas**

Juliana Trindade Caleffi

Flávia Karina Delella

Wellerson Rodrigo Scarano

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Campus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Mestre no Programa
de Pós-Graduação em Biologia Geral e
Aplicada.*

Orientadora: Profa. Dra. Flávia Karina Delella

BOTUCATU – SP

2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Caleffi, Juliana Trindade.

Estudo in vitro do efeito isolado ou sinérgico do ácido anacárdico no câncer de ovário e pâncreas / Juliana Trindade Caleffi. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Flávia Karina Delella

Coorientador: Wellerson Rodrigo Scarano

Capes: 20601000

1. Ovários - Câncer. 2. Pâncreas - Câncer. 3. Técnicas de cultura de Células. 4. Técnicas in vitro.

Palavras-chave: Ácido anacárdico; Câncer de ovário; Câncer de pâncreas; Cultura celular 3D magnética; Secretoma.

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha vó materna, Maria Paulina Louvison Trindade, que durante meu mestrado acabou indo para junto de Deus, alegrando ainda mais o céu com seus encantos, nos deixando morrendo de saudades. Ela que sempre, mesmo sem entender nada do que eu fazia (e olha que eu tentei explicar muitas vezes), tinha orgulho em contar para as pessoas que sua primeira neta fazia faculdade na UNESP, e que iria descobrir a cura do câncer. É vó, quem sabe um dia eu chego lá! Obrigada por todo amor, por toda a oração e por todo abraço que nos últimos meses ficaram apenas na memória. Te dedico esse trabalho, pois assim como você, ele saiu de muita luta, garra, dedicação, persistência, confiança e orgulho ao final!

Agradecimentos

Gostaria de começar agradecendo a pessoa que Fez e Faz tudo na minha vida se tornar possível. Obrigada Deus por sempre me mostrar que a vida se encontra nos pequenos detalhes, e que cada dia é um novo dia. Obrigada por me guiar nessa caminhada e por me prover de luz, mesmo em momentos de trevas. Sei que nunca vais me abandonar, e eu agradeço por sempre me guiar e me orientar nessa jornada que é a vida!

Agradeço a minha mãe, Eliane Trindade, meu pai, Mario Caleffi, minha madrastra, Sônia Isabel, meu padrasto, Guilherme Paccola, e toda a minha família, por todos os ensinamentos e palavras de sabedoria quando precisei. Além de todo colo, abraço, amor e carinho que foram alimentos para a alma e pro coração durante todo esse processo, que foi marcado por uma pandemia e fez tudo se tornar mais difícil. Obrigada por toda a paciência que tiveram comigo, e por entenderem os momentos que estive longe e as comemorações que não consegui participar. Sem o apoio e amparo de vocês, essa caminhada teria sido muito mais difícil!

A minha orientadora por toda a persistência, ensinamento, dedicação e paciência que teve comigo durante todo esse tempo. Só tenho a te agradecer e admirar pela mulher e pesquisadora que és. Você com seu jeito gentil e sábio de nos conduzir, nos fez aprender que a caminhada sozinha é muito mais difícil e triste do que quando podemos ter alguém com quem compartilhar nossos desafios e vitórias. E cada vitória nossa foi sua, e vice e versa. Sem você, nada disso teria sido possível, obrigada!

A Mirian Caroline, que foi mais que uma parceira de laboratório, ela foi amiga, confidente e irmã. Sem ela esse mestrado não teria sido o mesmo! Obrigada por toda a ajuda, por toda conversa, por toda dedicação com minhas análises, por toda ideia que foi muito bem vinda e toda pergunta que sempre gerava um *insight*. Você com certeza é uma pessoa que Deus colocou no meu caminho e eu só tenho a agradecer. Você ainda vai chegar lá amiga, e eu não tenho dúvidas de que estarei ao seu lado para te aplaudir de pé!

Ao Gabriel Caxali, por todos os áudios, conversas e preocupações em me ajudar com as análises e sempre se fazer presente. Você também foi muito mais que um parceiro na equipe, foi um amigo que vou levar pro resto da vida.

Queria agradecer também ao grupo do laboratório, em especial a Carol Barquilha, Caio Cesar, Sergio Alexandre, Flávia Bessi, Matheus Fioretto, Luiz Frediane, Luiza Corrêa e Nilton Santos, por sempre dedicarem um pouco do tempo de vocês para me ajudar. Obrigada por todos os ensinamentos, pelos conselhos, pela companhia e

habilidades de cada um. Vocês contribuíram muito para o meu crescimento pessoal e profissional, e só fez crescer ainda mais minha admiração por todos. Obrigada!

Ao meu ex-companheiro Rafael Juvêncio, por ter sempre acreditado em mim, me apoiado em todas as minhas decisões, e por sempre ter me incentivado a seguir em frente. Você precisou ter muita paciência comigo e eu nunca vou esquecer em como você foi importante nesse momento da minha vida.

As minhas amigas Ana Denadai e Jéssyca Borro, que são minhas irmãs e confidentes em Botucatu. Vocês foram essenciais para essa minha caminhada. Obrigada pelos abraços, pelas risadas, pelo carinho, pelo apoio, pelos conselhos e por toda a amizade. Vocês fizeram e fazem tudo se tornar mais leve.

A minha família de Botucatu, Amanda Rosa e Luisa Suter. Vocês são a família que a vida me apresentou e eu só tenho a agradecer por fazerem parte da minha vida.

A Amanda Vendrami e ao Samuel Gameiro que entraram na minha vida agora ao finalzinho do mestrado, mas que já se tornaram muito especiais e me ajudaram muito com todo o apoio, conselho, sorrisos e abraços que fizeram esse fim se tornar mais alegre e feliz.

A minha banca de qualificação, Flávia Delella, Wellerson Scarano e Glaura Fernandes pelas sugestões e contribuições para este trabalho, e a Paula Freie e Carlos Eduardo por terem aceitado fazer parte da minha banca de defesa.

E finalizo agradecendo a CAPES pela concessão de bolsa. Sem essa ajuda financeira eu não seria capaz de realizar meus estudos.

Homenagem ao orientador

Não tem como começar por outra palavra a não ser **GRATIDÃO**. Gratidão por ter me aceitado fazer parte do grupo lá no meu Bacharel, por ter confiado em mim e acreditado que eu era capaz. Eu sempre te disse isso e volto a repetir: Você é a minha mãe do Lab, e como mãe me acolheu, me confortou, me incentivou, me ensinou, deu seus puxões de orelha, mas sempre fez tudo pensando no meu crescimento pessoal e profissional. Você me inspira como mulher, mãe, pesquisadora e professora. Você é uma mulher muito especial, forte e batalhadora que eu tive a honra de conhecer. Graças ao seu amor pela cultura celular, hoje eu me encontrei no que eu mais gosto fazer e vou levar pro resto da minha vida! Sei que esses dois anos não foram fáceis, mas junto deles veio algo maravilhoso que foi o Rafael e o Enrico. Só tenho a te agradecer por ser essa orientadora extraordinária e essa pessoa maravilhosa. Que orgulho poder ter feito parte da sua história como pesquisadora! Obrigada por TUDO! De verdade.

“Você não precisa que ninguém te ensine a voar, está no seu espírito. Mas é bom ter quem nos lembre de que temos asas.”

Ryane Leão

Epígrafes

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação. Mas se você não fizer nada, não existirão resultados.”

Mahatma Gandhi

“A maior recompensa pelo trabalho não é o que a pessoa ganha, é o que ela se torna através dele.”

John Ruskin

SUMÁRIO

Resumo.....	1
Abstract.....	2
Introdução	3
Câncer de Ovário	4
Câncer de Pâncreas.....	7
Agente Antineoplásico - Paclitaxel	11
Ácido Anacárdico.....	14
Objetivos Gerais.....	17
Capítulo 1.....	27
Capítulo 2.....	51
Capítulo 3.....	66

RESUMO

O câncer de ovário e de pâncreas são neoplasias bastante letais, que se encontram dentre os 10 tipos de câncer que mais causam morte no mundo. Isso deve-se aos seus sintomas serem muitas vezes ignorados ou identificados como sinais de outras doenças, causando atrasos na detecção e sendo descobertos na maioria dos casos já em estágios avançados, levando a morte precoce dos pacientes. Compreender melhor o funcionamento de processos fundamentais na evolução dessas doenças, como vias de proliferação e morte, processos de resistência, de inflamação, migração e invasão celular, podem auxiliar na cura ou no tratamento. Por isso, a busca por medicamentos, novos tratamentos e a descoberta de biomarcadores (como possíveis alvos terapêuticos), se fazem necessário. Pensando nisso, o nosso projeto seguiu por diferentes abordagens de estudo, buscando métodos inovadores e eficazes, como a análise de bioinformática com biomarcadores de alta pureza, encontrados no secretoma de câncer de pâncreas, análises laboratoriais *in vitro* de viabilidade e morte celular em células tumorais ovarianas, cultivadas em cultura tridimensional e tratadas com a combinação de quimioterápico de primeira linha e o composto natural Ácido Anacárdico, além de buscar entender e apresentar a técnica tridimensional usada no estudo em uma revisão pioneira sobre cultura celular 3D magnética.

Palavras chave: ácido anacárdico, câncer de ovário, câncer de pâncreas, secretoma, cultura celular 3D magnética.

ABSTRACT

Ovarian and pancreatic cancer are very lethal neoplasms, which are among the 10 most lethal cancers in the world. This is due to the fact that their symptoms are often ignored or identified as signs of other diseases, causing delays in detection and being discovered in most cases already in advanced stages, leading to the early death of patients. To better understand the functioning of fundamental processes in the evolution of these diseases, such as proliferation and death pathways, processes of resistance, inflammation, migration and cellular invasion can help in the cure or treatment. Therefore, the search for drugs, new treatments and the discovery of biomarkers (as possible therapeutic targets), are necessary. With this in mind, our project followed different research approaches, looking for innovative and effective methods such as bioinformatics analysis with high purity biomarkers found in the pancreatic cancer secretome, *in vitro* laboratory viability analyzes and cell death in ovarian tumor cells cultured in three-dimensional model and treated with the combination of first-line chemotherapy and the natural compound Anacardic Acid, in addition to seeking to understand and present the three-dimensional technique used in the study in a pioneering review of 3D magnetic cell culture.

Keywords: anacardic acid, ovarian cancer, pancreatic cancer, secretome, 3D magnetic cell culture.

References

- [1] A. Verma, M. Verma, A. Singh, Animal tissue culture principles and applications, in: *Animal Biotechnology*, Elsevier, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811710-1.00012-4>.
- [2] R.I. Freshney, *Culture of animal cells : a manual of basic technique and specialized applications*, 6th ed., John Wiley & Sons, Inc., 2010.
- [3] J.S. Draper, K. Smith, P. Gokhale, H.D. Moore, E. Maltby, J. Johnson, L. Meisner, T.P. Zwaka, J.A. Thomson, P.W. Andrews, Recurrent gain of chromosomes 17q and 12 in cultured human embryonic stem cells, *Nature Biotechnology*. 22 (2004). <https://doi.org/10.1038/nbt922>.
- [4] M.W. Tibbitt, K.S. Anseth, Hydrogels as extracellular matrix mimics for 3D cell culture, *Biotechnology and Bioengineering*. 103 (2009). <https://doi.org/10.1002/bit.22361>.
- [5] K. Duval, H. Grover, L.-H. Han, Y. Mou, A.F. Pegoraro, J. Fredberg, Z. Chen, Modeling physiological events in 2D vs. 3D cell culture, *Physiology*. 32 (2017). <https://doi.org/10.1152/physiol.00036.2016>.
- [6] M. Ravi, V. Paramesh, S.R. Kaviya, E. Anuradha, F.D.P. Solomon, 3D cell culture systems: advantages and applications, *Journal of Cellular Physiology*. 230 (2015). <https://doi.org/10.1002/jcp.24683>.
- [7] H. Baharvand, S.M. Hashemi, S. Kazemi Ashtiani, A. Farrokhi, Differentiation of human embryonic stem cells into hepatocytes in 2D and 3D culture systems in vitro, *The International Journal of Developmental Biology*. 50 (2006). <https://doi.org/10.1387/ijdb.052072hb>.
- [8] K.M. Hakkinen, J.S. Harunaga, A.D. Doyle, K.M. Yamada, Direct comparisons of the morphology, migration, cell adhesions, and actin cytoskeleton of fibroblasts in four different three-dimensional extracellular matrices, *Tissue Engineering Part A*. 17 (2011). <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0273>.
- [9] T.B. Puschmann, C. Zandén, Y. de Pablo, F. Kirchhoff, M. Pekna, J. Liu, M. Pekny, Bioactive 3D cell culture system minimizes cellular stress and maintains the in vivo-like morphological complexity of astroglial cells, *Glia*. 61 (2013). <https://doi.org/10.1002/glia.22446>.
- [10] A. Riedl, M. Schleder, K. Pudielko, M. Stadler, S. Walter, D. Unterleuthner, C. Unger, N. Kramer, M. Hengstschläger, L. Kenner, D. Pfeiffer, G. Krupitza, H. Dolznig, Comparison of cancer cells in 2D vs 3D culture reveals differences in AKT–mTOR–S6K signaling and drug responses, *Journal of Cell Science*. 130 (2017). <https://doi.org/10.1242/jcs.188102>.
- [11] G. Mazzoleni, D. di Lorenzo, N. Steimberg, Modelling tissues in 3D: the next future of pharmacotoxicology and food research?, *Genes & Nutrition*. 4 (2009). <https://doi.org/10.1007/s12263-008-0107-0>.
- [12] W.L. Haisler, D.M. Timm, J.A. Gage, H. Tseng, T.C. Killian, G.R. Souza, Three-dimensional cell culturing by magnetic levitation, *Nature Protocols*. 8 (2013). <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.125>.
- [13] G.R. Souza, J.R. Molina, R.M. Raphael, M.G. Ozawa, D.J. Stark, C.S. Levin, L.F. Bronk, J.S. Ananta, J. Mandelin, M.-M. Georgescu, J.A. Bankson, J.G. Gelovani, T.C. Killian, W. Arap, R. Pasqualini, Three-dimensional tissue culture based on magnetic cell levitation, *Nature Nanotechnology*. 5 (2010). <https://doi.org/10.1038/nnano.2010.23>.
- [14] D.M. Timm, J. Chen, D. Sing, J.A. Gage, W.L. Haisler, S.K. Neeley, R.M. Raphael, M. Dehghani, K.P. Rosenblatt, T.C. Killian, H. Tseng, G.R. Souza, A high-throughput three-dimensional cell migration assay for toxicity screening with mobile device-based macroscopic image analysis, *Scientific Reports*. 3 (2013). <https://doi.org/10.1038/srep03000>.
- [15] G. Souza, H. Tseng, J. Gage, A. Mani, P. Desai, F. Leonard, A. Liao, M. Longo, J. Refuerzo, B. Godin, Magnetically bioprinted human myometrial 3D cell rings as a model for uterine contractility, *International Journal of Molecular Sciences*. 18 (2017). <https://doi.org/10.3390/ijms18040683>.
- [16] H. Tseng, J.A. Gage, T. Shen, W.L. Haisler, S.K. Neeley, S. Shiao, J. Chen, P.K. Desai, A. Liao, C. Hebel, R.M. Raphael, J.L. Becker, G.R. Souza, A spheroid toxicity assay using magnetic 3D bioprinting and real-time mobile device-based imaging, *Scientific Reports*. 5 (2015). <https://doi.org/10.1038/srep13987>.
- [17] C. Adine, K.K. Ng, S. Rungarunlert, G.R. Souza, J.N. Ferreira, Engineering innervated secretory epithelial organoids by magnetic three-dimensional bioprinting for stimulating epithelial growth in salivary glands, *Biomaterials*. 180 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.06.011>.

- [18] M.E. Sakalem, M.T. de Sibio, F.A. da S. da Costa, M. de Oliveira, Historical evolution of spheroids and organoids, and possibilities of use in life sciences and medicine, *Biotechnology Journal*. (2021). <https://doi.org/10.1002/biot.202000463>.
- [19] F. Pampaloni, E.G. Reynaud, E.H.K. Stelzer, The third dimension bridges the gap between cell culture and live tissue, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 8 (2007). <https://doi.org/10.1038/nrm2236>.
- [20] S. Nath, G.R. Devi, Three-dimensional culture systems in cancer research: Focus on tumor spheroid model, *Pharmacology & Therapeutics*. 163 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.03.013>.
- [21] A. Alghuwainem, A.T. Alshareeda, B. Alsowayan, Scaffold-free 3-D cell sheet technique bridges the gap between 2-D cell culture and animal models, *International Journal of Molecular Sciences*. 20 (2019). <https://doi.org/10.3390/ijms20194926>.
- [22] K.A. Athanasiou, R. Eswaramoorthy, P. Hadidi, J.C. Hu, Self-organization and the self-assembling process in tissue engineering, *Annual Review of Biomedical Engineering*. 15 (2013). <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071812-152423>.
- [23] N. Matsuda, T. Shimizu, M. Yamato, T. Okano, Tissue engineering based on cell sheet technology, *Advanced Materials*. 19 (2007). <https://doi.org/10.1002/adma.200701978>.
- [24] J.W. Haycock, 3D cell culture: a review of current approaches and techniques, in: 2011. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-984-0_1.
- [25] A. Jørgensen, J. Young, J.E. Nielsen, U.N. Joensen, B.G. Toft, E. Rajpert-De Meyts, K.L. Loveland, Hanging drop cultures of human testis and testis cancer samples: a model used to investigate activin treatment effects in a preserved niche, *British Journal of Cancer*. 110 (2014). <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.160>.
- [26] M. Ingram, G.B. Techy, R. Saroufeem, O. Yazan, K.S. Narayan, T.J. Goodwin, G.F. Spaulding, Three-dimensional growth patterns of various human tumor cell lines in simulated microgravity of a NASA bioreactor, *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*. 33 (1997). <https://doi.org/10.1007/s11626-997-0064-8>.
- [27] M.A. Phelan, A.L. Gianforcaro, J.A. Gerstenhaber, P.I. Lelkes, An air bubble-isolating rotating wall vessel bioreactor for improved spheroid/organoid formation, *Tissue Engineering Part C: Methods*. 25 (2019). <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2019.0088>.
- [28] B. Dhandayuthapani, Y. Yoshida, T. Maekawa, D.S. Kumar, Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review, *International Journal of Polymer Science*. 2011 (2011). <https://doi.org/10.1155/2011/290602>.
- [29] E. Knight, S. Przyborski, Advances in 3D cell culture technologies enabling tissue-like structures to be created in vitro, *Journal of Anatomy*. 227 (2015). <https://doi.org/10.1111/joa.12257>.
- [30] D. Huh, G.A. Hamilton, D.E. Ingber, From 3D cell culture to organs-on-chips, *Trends in Cell Biology*. 21 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2011.09.005>.
- [31] V. van Duinen, S.J. Trietsch, J. Joore, P. Vulto, T. Hankemeier, Microfluidic 3D cell culture: from tools to tissue models, *Current Opinion in Biotechnology*. 35 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.05.002>.
- [32] G.R. Souza, E. Yonel-Gumruk, D. Fan, J. Easley, R. Rangel, L. Guzman-Rojas, J.H. Miller, W. Arap, R. Pasqualini, Bottom-up assembly of hydrogels from bacteriophage and Au nanoparticles: the effect of cis- and trans-acting factors, *PLoS ONE*. 3 (2008). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002242>.
- [33] R. Langer, D.A. Tirrell, Designing materials for biology and medicine, *Nature*. 428 (2004). <https://doi.org/10.1038/nature02388>.
- [34] J. Dobson, Remote control of cellular behaviour with magnetic nanoparticles, *Nature Nanotechnology*. 3 (2008). <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.39>.
- [35] A. Ito, K. Ino, T. Kobayashi, H. Honda, The effect of RGD peptide-conjugated magnetite cationic liposomes on cell growth and cell sheet harvesting, *Biomaterials*. 26 (2005). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.03.039>.
- [36] C.N. Souza-Araújo, C. Rodrigues Tonetti, M.R. Cardoso, L.A.L. de A. Andrade, R.F. Silva, L.G.R. Fernandes, F. Guimarães, Three-dimensional cell culture based on magnetic fields to assemble low-grade ovarian carcinoma cell aggregates containing lymphocytes, *Cells*. 9 (2020). <https://doi.org/10.3390/cells9030635>.
- [37] H. Jaganathan, J. Gage, F. Leonard, S. Srinivasan, G.R. Souza, B. Dave, B. Godin, Three-dimensional in vitro co-culture model of breast tumor using magnetic levitation, *Scientific Reports*. 4 (2015). <https://doi.org/10.1038/srep06468>.

- [38] H. Tseng, L.R. Balaoing, B. Grigoryan, R.M. Raphael, T.C. Killian, G.R. Souza, K.J. Grande-Allen, A three-dimensional co-culture model of the aortic valve using magnetic levitation, *Acta Biomaterialia*. 10 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.09.003>.
- [39] A.C. Daquinag, G.R. Souza, M.G. Kolonin, Adipose tissue engineering in three-dimensional levitation tissue culture system based on magnetic nanoparticles, *Tissue Engineering Part C: Methods*. 19 (2013). <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2012.0198>.
- [40] M. Urbanczyk, A. Zbinden, S.L. Layland, G. Duffy, K. Schenke-Layland, Controlled heterotypic pseudo-islet assembly of human β -cells and human umbilical vein endothelial cells using magnetic levitation, *Tissue Engineering Part A*. 26 (2020). <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2019.0158>.
- [41] Y. Takahashi, K. Sekine, T. Kin, T. Takebe, H. Taniguchi, Self-condensation culture enables vascularization of tissue fragments for efficient therapeutic transplantation, *Cell Reports*. 23 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.03.123>.
- [42] H. Tseng, J.A. Gage, R.M. Raphael, R.H. Moore, T.C. Killian, K.J. Grande-Allen, G.R. Souza, Assembly of a three-dimensional multitype bronchiole coculture model using magnetic levitation, *Tissue Engineering Part C: Methods*. 19 (2013). <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2012.0157>.
- [43] C. Miller, S. George, L. Niklason, Developing a tissue-engineered model of the human bronchiole, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 4 (2010). <https://doi.org/10.1002/term.277>.
- [44] M. Hogan, G. Souza, R. Birla, Assembly of a functional 3D primary cardiac construct using magnetic levitation, *AIMS Bioengineering*. 3 (2016). <https://doi.org/10.3934/bioeng.2016.3.277>.
- [45] Q.L. Xu, A. Furuhashi, Q.Z. Zhang, C.M. Jiang, T.-H. Chang, A.D. Le, Induction of salivary gland-like cells from dental follicle epithelial cells, *Journal of Dental Research*. 96 (2017). <https://doi.org/10.1177/0022034517711146>.
- [46] E. Kiss, E.H.M.M. Abdelwahab, A. Steib, E. Papp, Z. Torok, L. Jakab, G. Smuk, V. Sarosi, J.E. Pongracz, Cisplatin treatment induced interleukin 6 and 8 production alters lung adenocarcinoma cell migration in an oncogenic mutation dependent manner, *Respiratory Research*. 21 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12931-020-01389-x>.
- [47] C.J. Langer, Roles of EGFR and KRAS mutations in the treatment of patients with non-small-cell lung cancer, *Pharmacy & Therapeutics*. 36 (2011) 263–268.
- [48] S. Hou, H. Tiriach, B.P. Sridharan, L. Scampavia, F. Madoux, J. Seldin, G.R. Souza, D. Watson, D. Tuveson, T.P. Spicer, Advanced development of primary pancreatic organoid tumor models for high-throughput phenotypic drug screening, *SLAS DISCOVERY: Advancing the Science of Drug Discovery*. 23 (2018). <https://doi.org/10.1177/2472555218766842>.
- [49] H. Tseng, J.A. Gage, W.L. Haisler, S.K. Neeley, T. Shen, C. Hebel, H.G. Barthlow, M. Wagoner, G.R. Souza, A high-throughput in vitro ring assay for vasoactivity using magnetic 3D bioprinting, *Scientific Reports*. 6 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep30640>.
- [50] P. Bernstein, M. Dong, D. Corbeil, M. Gelinsky, K.-P. Günther, S. Fickert, Pellet culture elicits superior chondrogenic redifferentiation than alginate-based systems, *Biotechnology Progress*. 25 (2009). <https://doi.org/10.1002/btpr.186>.
- [51] F. Hirschhaeuser, H. Menne, C. Dittfeld, J. West, W. Mueller-Klieser, L.A. Kunz-Schughart, Multicellular tumor spheroids: an underestimated tool is catching up again, *Journal of Biotechnology*. 148 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.01.012>.
- [52] Z. Wang, P. Yang, H. Xu, A. Qian, L. Hu, P. Shang, Inhibitory effects of a gradient static magnetic field on normal angiogenesis, *Bioelectromagnetics*. 30 (2009). <https://doi.org/10.1002/bem.20501>.