

# ŠTANDARDIZÁCIA TVORBY SFÉROIDOV Z BUNIEK DUKTÁLNEHO ADENOKARCINÓMU PANKREASU

## Standardization of spheroid formation from pancreatic ductal adenocarcinoma cells

Lenka VARINSKÁ<sup>1</sup>, Jana SABOVÁ<sup>1</sup>, Matúš ČOMA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ústav farmakológie, Lekárska fakulta, Univerzita P.J. Šafárika, Košice, prednosta prof. MVDr. J. Mojžiš, DrSc.

<sup>2</sup>Referát pre biomedicínsky výskum, Východoslovenský ústav srdcových a cievnych chorôb, a. s., Košice, referent špecialista RNDr. P. Gál, DrSc., MBA

### Abstrakt

**Východiská.** Kultivácia buniek vo forme 3D sféroidov vytvára mikroprostredie bližšie *in vivo* podmienkam v porovnaní s konvenčnými 2D monovrstvami. Spôsoby ich prípravy sa neustále zdokonaľujú s cieľom dosiahnuť konzistentné a funkčne relevantné štruktúry.

**Súbor a metódy.** V tejto štúdii porovnávame platformy „hanging-drop“ a 96-jamkové ultranízkoadhézne platne s guľatým dnom, v prítomnosti aj neprítomnosti 0,24 % metylcelulózy (MC), pri líniiach pankreatického duktálneho adenokarcinómu (PDAC) PANC-1, PaTu-8902, MIAPaCa-2 a Capan-2.

**Výsledky.** Línie PANC-1 a PaTu-8902 tvorili kompaktné, morfológicky stabilné sféroidy, kým MIAPaCa-2 a Capan-2 vytvárali voľné bunkové agregáty s nízkou kompaktnosťou. Stanovili sme optimálnu hustotu nasadenia (500 – 1000 buniek/jamka), pri ktorej priemer sféroidov počas experimentu nepresiahol veľkosť 500 µm, čo je hodnota spájaná s rozvojom centrálnej nekrózy. Pridaním MC sme dosiahli zvýšenie viskozity média, čo viedlo k zníženiu adhézie buniek k povrchu jamiek a podporilo medzibunkové interakcie; výsledkom bol ostrejšie definovaný okraj a vyššia cirkularita sféroidov.

**Záver.** Metódou „hanging-drop“ sme vytvorili kompaktné sféroidy (PANC-1 a PaTu-8902), z hľadiska rutinného použitia je však táto platforma náročnejšia na manipuláciu, výmenu média a následné testovanie látok. Odporúčame štandardizovaný protokol (~500 – 1000 buniek/jamka; 0,24 % MC) ako praktický základ pre fenotypový a farmakologický skrining PDAC (lit. 9). Text v PDF [www.lekarskyobzor.sk](http://www.lekarskyobzor.sk).

**KLÚČOVÉ SLOVÁ:** 3D model, PDAC, metylcelulóza, ultranízkoadhézne platne, „hanging-drop“.

Lek Obz 2026, 75 (1): 34-38

### Abstract

**Background.** Three-dimensional (3D) spheroid culture more accurately mimics the *in vivo* tumor microenvironment compared with conventional two-dimensional monolayers.

**Sample and Methods.** Hanging-drop and 96-well ultra-low-attachment (round-bottom) platforms, with or without the addition of 0.24% methylcellulose (MC), were evaluated using pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) cell lines PANC-1, PaTu-8902, MIAPaCa-2, and Capan-2.

**Results.** PANC-1 and PaTu-8902 formed compact, morphologically stable spheroids, whereas MIAPaCa-2 and Capan-2 were aggregating without generating a compact spheroid. A seeding density of 500–1,000 cells per well maintained spheroid diameters ≤500 µm throughout cultivation, a threshold commonly associated with the onset of central necrosis. The addition of MC increased medium viscosity, reduced cell adhesion to well surfaces, and facilitated intercellular cohesion, which translated into improved spheroid compactness and circularity. Although hanging-drop culture yielded compact spheroids (PANC-1, PaTu-8902), it was less practical for routine workflows due to challenging medium exchange and compound dosing. **Conclusions.** Accordingly, we recommend a standardized protocol (~500–1,000 cells/well; 0.24% MC) in 96-well ultra-low-attachment round-bottom plates as a practical, reproducible foundation for phenotypic and pharmacological screening in PDAC models (Ref. 9). Text in PDF [www.lekarskyobzor.sk](http://www.lekarskyobzor.sk).

**KEY WORDS:** 3D model; PDAC; methylcellulose; ultra-low-attachment plates; hanging-drop.

Lek Obz 2026, 75 (1): 34-38

### Úvod

Duktálny adenokarcinóm pankreasu (PDAC) patrí medzi najagresívnejšie nádorové ochorenia. Ide o najčastejší typ rakoviny pankreasu (~90%) charakterizovaný vysokou malignitou a menej ako 10% päťročným preživaním. Vzhľadom na asymptomatický začiatok je väčšinou diagnostikovaný v pokročilom štádiu, keď je kuratívna liečba (radikálna resekcia v kombinácii s che-

moterapiou) možná len u 15 – 20% pacientov (8). Zároveň globálna záťaž PDAC rýchlo rastie a dlhodobé projekcie naznačujú, že sa v najbližších rokoch zaradí na druhé miesto príčin úmrtí na nádorové ochorenia po karcinóme pľúc, s výrazným nárastom mortality v mnohých regiónoch sveta (8).

Tento trend zvyrazňuje potrebu rýchlych a presných predklinických platforiem. Klasické 2D kultúry síce

umožňujú cenovo dostupný a reprodukovateľný skrining, no nevystihujú priestorovú organizáciu ani mikroprostredie nádoru. Preto sa v súčasnosti zintenzívňuje využívanie 3D modelov ako medzistupňa medzi 2D testami a zvieracími štúdiami. Tieto modely urýchľujú *in vivo* validáciu, napomáhajú identifikácii klinicky relevantných biomarkerov a prispievajú k redukcii potreby zvieracích modelov.

Nádorové sféroidy sú kompaktné 3D bunkové agregáty, ktoré pri priemeroch  $\leq \sim 400 - 500 \mu\text{m}$  spontánne vytvárajú zóny proliferujúcich buniek na periférii a nízkoproliferujúcich buniek vo vnútri v dôsledku obmedzeného transportu živín a kyslíka, čím reprodukujú difúzne obmedzenia solídnych nádorov (7). Výrazne väčšie sféroidy môžu mať aj nekrotické centrum, podobne ako pri niektorých solídnych nádoroch (3, 7). Na rozdiel od 2D monovrstiev umožňujú hodnotiť penetráciu a distribúciu liečiv, gradientmi podmienenú rezistenciu a invazívne správanie v prostredí bližšom fyziologickým podmienkam (4). Z praktického hľadiska ponúkajú dobrú reprodukovateľnosť a škálovateľnosť pre skrining pri zachovaní primeraných nákladov a jednoduchej manipulácie.

Tento článok je zameraný na optimalizáciu metodiky prípravy nádorových sféroidov z viacerých bunkových línií PDAC. Cieľom bolo určiť optimálny počet buniek na jamku a porovnať dve komplementárne platformy tvorby PDAC sféroidov: (i) „hanging-drop“ a (ii) využitie 96-jamkových platní s ultranízkou adhéziou a guľatým dnom, a to v prítomnosti metylcelulózy (MC) a bez nej. Hodnotili sme metriky kvality a reprodukovateľnosti (priemer sféroidov, kompaktnosť/cirkularita) a vhodnosť pre následné experimentálne použitie.

## Materiál a metódy

### Kultivácia nádorových bunkových línií

V experimentoch sme použili ľudské bunkové línie pankreatického duktálneho adenokarcinómu: PANC-1, MIAPaCa-2 a PaTu-8902 získané darom od prof. Libora Vítka (Ústav lekárskej biochémie a laboratórnej diagnostiky, Karlova univerzita, Praha, ČR) a líniu Capan-2 zakúpenú z ATCC (CRL-1469; Manassas, VA, USA). Bunky Capan-2 sme kultivovali v médiu McCoy's 5A (Cytiva, Marlborough, MA, USA), kým línie PANC-1, MIAPaCa-2 a PaTu-8902 sme kultivovali v DMEM (Cytiva, Marlborough, MA, USA). Všetky médiá boli suplementované 10 % fetálnym bovinným sérom (FBS; Cytiva, Marlborough, MA, USA) a 1 % penicilínom/streptomycínom (ATB; Biochrom, Berlín, Nemecko). Kultivácia prebiehala pri 37 °C v atmosfére s 5 % CO<sub>2</sub>.

### Príprava sféroidov

(i) Metódou použitia 96-jamkových platní s ultranízkou adhéziou (ULA) a guľatým dnom

Sféroidy sme generovali v 96-jamkových platniach s guľatým dnom za použitia média suplementovaného metylcelulózou (MC) a média bez MC. Na prípravu zásobného roztoku MC sme 6 g MC (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) rozpustili v 250 ml čistého média

predhriateho na 60 °C a miešali 20 min. Následne sme pridali 250 ml média s dvojnásobnou koncentráciou FBS (20 %) do konečného objemu 500 ml a suspenziu sme miešali cez noc pri 4 °C. Roztok sme následne centrifugovali (5 000 × g, 2 h, laboratórna teplota). Na experimenty sme používali iba číry, vysokoviskózny supernatant ( $\approx 90 - 95$  % zásobného roztoku). Pracovné médium pre tvorbu sféroidov pozostávalo z 20 % zásobného roztoku MC a 80 % kultivačného média, čo zodpovedá výslednej koncentrácii MC 0,24 %. Testovali sme rôzne počty buniek na jamku v rozsahu 500 – 15 000 (500, 1000, 5000, 10 000, 15 000) v médiu s MC aj bez MC. Bunky sme nasádzali na 96-jamkové platne s ultranízkou adhéziou a guľatým dnom (Corning Inc., Corning, NY, USA) a kultivovali 6 dní v štandardných podmienkach (37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>), aby sa umožnila tvorba sféroidov. Platne sme denne vyberali z inkubátora na snímanie a monitorovanie priebehu formovania. Snímky sme získavali pomocou mikroskopu Olympus BX51 vybaveného CCD kamerou Olympus DP23 (Olympus, Tokio, Japonsko) a softvérom QuickPHOTO Micro (Promicra, Praha, Česká republika). Priemer ( $\mu\text{m}$ ) sféroidov sme kvantifikovali pomocou NIH ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/>).

### (ii) Hanging-drop kultivácia sféroidov

Základný princíp metódy spočíva v tom, že kombinácia gravitácie a povrchového napätia stabilizujúceho kvapku vedie k sedimentácii buniek do najnižšieho bodu kvapky, kde v dôsledku tesných medzibunkových kontaktov spontánne agregujú a vytvárajú sféroidy (7); postup je realizovateľný na štandardných kultivačných miskách (obr. 3A, B). V krátkosti, najprv sme do spodnej časti 60 mm Petriho misky pridali 5 ml PBS, čím sme vytvorili zvlhčovaciu komoru. Na vnútornú stranu vrchnáka misky sme napipetovali 20  $\mu\text{l}$  kvapky bunkovej suspenzie v médiu s/bez MC, každá obsahovala 20 000 alebo 30 000 buniek/kvapka, pričom kvapky boli vzájomne oddelené ( $\leq 20$  kvapiek/vrchnák). Vrchnák sme následne opatrne preklopili na misku s PBS tak, aby kvapky viseli nad zvlhčovacou komorou, a kultivovali v štandardných podmienkach (37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>). Tvorbu sféroidov sme priebežne monitorovali počas 6 dní.

## Štatistická analýza

Údaje sú prezentované ako priemer  $\pm$  smerodajná odchýlka (SD). Štatistickú významnosť sme určili pomocou dvojfaktorovej ANOVA s následným Dunnettovým viacnásobným porovnávacím testom. Analýzy sme vykonali v programe GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) a za štatisticky významné sa považovalo  $p < 0,05$  (hodnoty  $p$ : ns  $\geq 0,05$ ; \*  $< 0,05$ ; \*\*  $< 0,01$ ; \*\*\*  $< 0,001$ ; \*\*\*\*  $< 0,0001$ ). Experimenty sme realizovali v troch nezávislých biologických replikátoch, každý v technickom triplikáte.

## Výsledky

Spomedzi testovaných pankreatických bunkových línií vytvárali morfológicky stabilné a reprodukovateľné

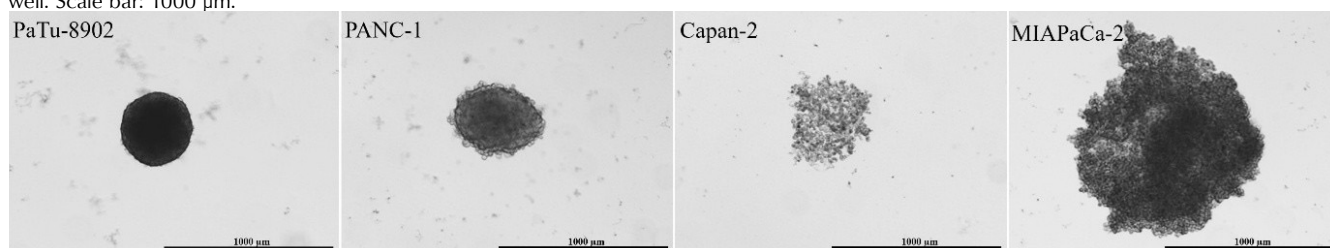
sféroidy línie PaTu-8902 a PANC-1 aj metódou „hanging-drop“, aj použitím ultranízkoadhézných 96-jamkových platní. Naopak, línie MIAPaCa-2 a Capan-2 za daných podmienok vytvárali zhuky buniek, ktoré na pohľad pripomínali sféroidy, neboli však kompaktné a pri bežnej manipulácii (pipetovaní, výmene média) sa rozpadali (obr. 1).

Optimalizácia počiatočného počtu buniek (500, 1000, 5000, 10 000, 15 000 buniek/jamka) určila 500 – 1000 buniek/jamka ako optimálny rozsah, pri ktorom bol dosahovaný vyrovnaný rast a priemer sféroïdov pod veľkosťou 500 µm (obr 2, tab. 1). Pri vyšších počtoch buniek (≥ 5000 buniek/jamka) sme do 3. dňa pozorovali pokles priemeru, v dôsledku úvodnej agregácie buniek, po ktorom nasledoval opätovný nárast (5000 buniek/jamka), resp. stagnácia rastu (10 000 a 15 000 buniek/jamka) (tab. 1). Tieto podmienky vied-

li k väčším sféroïdom, nižšej kompaktnosti a vyššej medzijamkovej variabilite, a preto nie sú vhodné pre štandardný 6-dňový protokol. Prítomnosť metylcelulózy (MC) mala výraznejší vplyv na bunkovú líniu PANC-1, kde viedla k menším priemerom sféroïdov a často aj k nižšej variabilite. Pri PaTu-8902 bol efekt MC na veľkosť sféroïdov závislý od počiatočného počtu buniek: pri 500 – 5000 bunkách/jamka boli priemery s MC porovnateľné alebo mierne vyššie, kým pri 10 000 až 15 000 bunkách/jamka porovnateľné alebo nižšie; zároveň MC výrazne znížila rozptyl medzi jamkami (tab. 1). Tieto zistenia poukazujú na líniovo špecifický prínos MC: pri PANC-1 predovšetkým zmenšenie a zrovnomenenie sféroïdov, pri PaTu-8902 najmä zvýšenie reprodukovateľnosti medzi jamkami. Okrem rozmerov MC ovplyvnila aj morfológiu: na snímkach sme kvalitatívne pozorovali ostrejšie ohraničenie a pravidelnejší tvar sfé-

**Obrázok 1. Morfológia 3D sféroïdov PDAC bunkových línií.** Reprezentatívne snímky sféroïdov línií PaTu-8902, PANC-1, Capan-2 a MIAPaCa-2 v 6. deň kultivácie na 96-jamkových ultranízkoadhézných platniach s guľatým dnom (0,24 % MC); počiatočné nasadenie 1000 buniek/jamka. Mierka: 1000 µm.

**Figure 1. Morphology of 3D spheroids of PDAC cell lines.** Representative images of spheroids derived from PaTu-8902, PANC-1, Capan-2, and MIAPaCa-2 cell lines on day 6 of culture in 96-well ultra-low-attachment, round-bottom plates (0.24% MC); initial seeding density: 1000 cells per well. Scale bar: 1000 µm.



**Tabuľka 1. Priemer sféroïdov (µm) v závislosti od počiatočného počtu buniek/jamka pri líniách PaTu-8902 a PANC-1 v dňoch 1, 3 a 6 v prítomnosti a neprítomnosti MC.**

Bunky boli kultivované na 96-jamkových platniach s ultranízkou adhéziou a guľatým dnom (s alebo bez 0,24 % MC). Údaje sú prezentované ako priemer ± smerodajná odchýlka (SD). Experimenty prebehli v troch nezávislých biologických replikátoch, každý v technickom triplikáte. Priemery sféroïdov boli kvantifikované v NIH Imagej.

**Table 1. Effect of initial seeding density on spheroid diameter (µm) in PaTu-8902 and PANC-1 on days 1, 3, and 6, in the presence and absence of 0.24% MC.**

Cells were cultured in 96-well, ultra-low attachment, round-bottom plates (with or without 0.24% MC). Data are presented as mean ± standard deviation (SD). Experiments were performed in three independent biological replicates, each conducted in technical triplicate. Spheroid diameters were quantified using NIH Imagej.

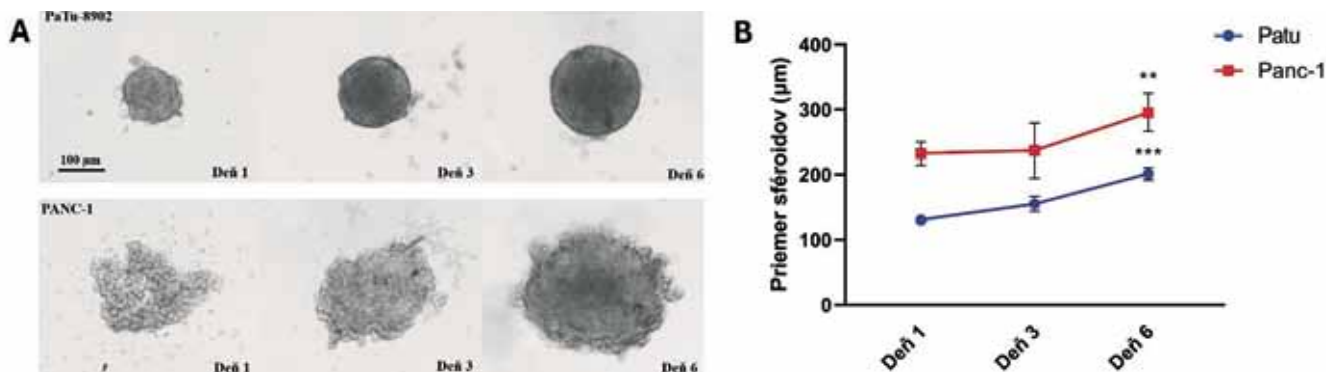
PaTu-8902	Priemer sféroïdu (µm)					
	Médium s MC			Médium bez MC		
Počet buniek/jamka	Deň 1	Deň 3	Deň 6	Deň 1	Deň 3	Deň 6
500	130,1±4,8	151,2±10,7	199,8±10,3	121,6±13,7	132,1±4,3	178,0±6,6
1000	257,7±17,7	288,9±6,3	421,4±11,7	240,9±27,1	252,5±8,3	375,5±14,0
5000	462,4±29,5	437,2±11,2	513,2±7,8	419,5±22,9	405,8±7,3	477,7±8,9
10 000	600,8±17,9	538,6±7,4	541,1±5,3	626,1±106,1	556,8±97,3	582,7±39,8
15 000	702,7±18,2	604,7±13,3	570,5±14,4	703,3±48,8	563,0±12,6	570,4±11,7

PANC-1	Priemer sféroïdu (µm)					
	Médium s MC			Médium bez MC		
Počet buniek/jamka	Deň 1	Deň 3	Deň 6	Deň 1	Deň 3	Deň 6
500	232,3±21,7	237,1±49,3	295,3±28,9	262,6±61,8	266,8±79,1	306,1±75,1
1000	355,1±51,5	359,7±64,6	474,2±42,6	401,4±94,4	404,7±120,0	491,6±72,4
5000	689,5±75,3	588,8±56,4	704,8±54,6	860,2±74,2	705,3±58,1	752,4±59,1
10 000	943,4±44,8	782,7±50,9	838,4±26,7	1126,0±35,7	882,3±32,2	866,6±53,6
15 000	1172,9±52,8	911,2±33,0	900,7±25,0	1226,5±61,9	997,5±76,9	989,7±37,6

**Obrázok 2. Rastová dynamika a morfológia 3D sféroidov.** (A) Reprezentatívne snímky 3D sféroidov pankreatických bunkových línií PaTu-8902 a PANC-1 v dňoch 1, 3 a 6 kultivovaných na 96-jamkovej platni s ultranízkou adhéziou a guľatým dnom (0,24 % MC), počiatočné nasadenie 500 buniek/jamka. Mierka: 100  $\mu\text{m}$ . (B) Priemer sféroidov PaTu-8902 a PANC-1 ( $\mu\text{m}$ ) v dňoch 1, 3 a 6, kvantifikovaný pomocou NIH ImageJ. Údaje sú prezentované ako priemer  $\pm$  smerodajná odchýlka (SD). Experimenty prebehli v troch nezávislých biologických replikátoch, každý v technickom triplikáte. Priemery sféroidov boli kvantifikované v NIH ImageJ.

**Figure 2. Growth dynamics and morphology of 3D spheroids.** (A) Representative images of 3D spheroids derived from pancreatic cancer cell lines PaTu-8902 and PANC-1 on days 1, 3, and 6, cultured in 96-well ultra-low attachment, round-bottom plates (0.24% MC); initial seeding density: 500 cells/well. Scale bar: 100  $\mu\text{m}$ . (B) Spheroid diameter of PaTu-8902 and PANC-1 ( $\mu\text{m}$ ) on days 1, 3, and 6, quantified using NIH ImageJ. Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation (SD). Experiments were performed in three independent biological replicates, each conducted in technical triplicate. Spheroid diameters were quantified using NIH ImageJ.



roidov. Metódou „hanging-drop“ sme pripravili kompaktné sféroidy z rovnakých bunkových línií (PaTu-8902, PANC-1) ako na ultranízkoadhézných 96-jamkových platniach (obr. 3), z hľadiska rutinného použitia však bola manipulácia a výmena média časovo aj prakticky náročnejšia. Často dochádzalo k zlietaniu kvapiek, čo spôsobovalo zmenu objemu a zámenu sféroidov.

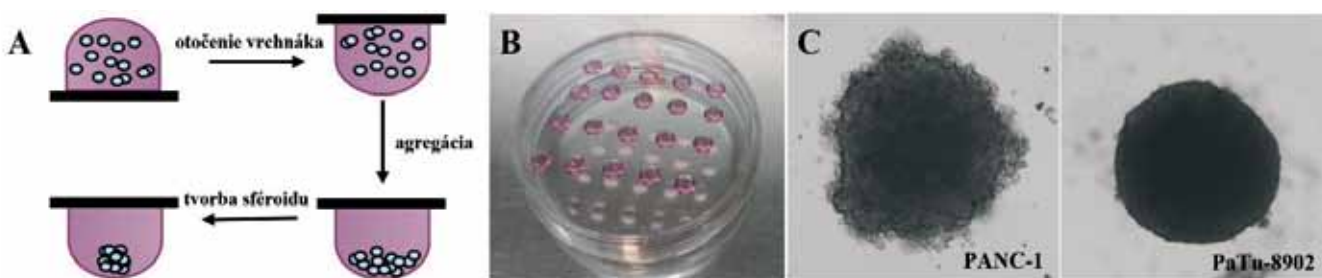
### Diskusia

V tejto práci sme porovnali dve komplementárne platformy tvorby PDAC sféroidov a ukázali, že pri použití 96-jamkových platní s ultranízkou adhéziou a guľatým dnom, ako aj metódou „hanging-drop“ línie PaTu-8902 a PANC-1 tvorili konzistentné, kompaktné a morfológicky stabilné sféroidy, kým MIAPaCa-2 a Capan-2 za rovnakých podmienok nevytvárali sféroidy, len voľné bunkové agregáty nedostatočne stabilné na odber ani na následné experimenty, čo je v súlade s viacerými štúdiami (6, 9). Platformou „hanging-drop“ sme síce pripravili homogénne sféroidy, v rutine si však

táto metóda vyžaduje vyššie počiatočné počty buniek na kvapku a precíznu manipuláciu; bez automatizácie je menej škálovateľná a prináša riziká pri výmene média a dávkovaní látok (1). Z týchto dôvodov považujeme 96-jamkové ultranízkoadhézne platne za vhodnejšiu voľbu pre bežný fenotypový a farmakologický skríning. Testovaním počiatočného počtu buniek sme stanovili 500 – 1000 buniek/jamka ako optimálnu hustotu nasadenia, pri ktorej sa dosahuje vyrovnaný rast a veľkosti vhodné pre vznik typickej zonácie (proliferujúci okraj, nízkoproliferujúca vrstva, hypoxické jadro) bez tvorby nekrotických oblastí (4). Prídavok metylcelulózy (MC) zlepšuje kvalitu sféroidov v dôsledku zvýšenej viskozity média, ktorá znižuje adhéziu buniek k povrchu jamiek, podporuje medzibunkové interakcie a urýchľuje tvorbu sféroidov (5). Pozorovali sme, že pri PANC-1 viedla MC k menším priemerom a nižšej variabilite, kým pri PaTu-8902 bol vplyv na veľkosť závislý od počiatočného počtu nasadených buniek; medzijamkový rozptyl sa však znížil naprieč všetkými testovanými počtami bu-

**Obrázok 3. Tvorba bunkových sféroidov metódou „hanging-drop“.** (A) Schematické znázornenie postupu: kvapky bunkovej suspenzie sme naniesli na vnútornú stranu vrchnáka, ktorý sa následne preklopí; bunky vytvoria agregáty a napokon sa zhrtnú do kompaktných sféroidov. (B) Fotografia kultivačnej misky so zvlhčovacou komorou a preklopeným vrchnákom s visiacimi kvapkami. (C) Reprezentatívne snímky 3D sféroidov pankreatických bunkových línií PaTu-8902 a PANC-1; deň 6.

**Figure 3. Formation of cell spheroids using the hanging-drop method.** (A) Schematic illustration of the procedure: drops of cell suspension were placed on the inner surface of the lid, which was then inverted; cells aggregated and subsequently compacted into spheroids. (B) Photograph of the culture dish with a humidified chamber and the inverted lid containing hanging drops. (C) Representative images of 3D spheroids formed by pancreatic cancer cell lines PaTu-8902 and PANC-1 on day 6.



niek. Kvalitatívne (na základe fotografií) sme zaznamenali ostrejšie ohraničenie a vyššiu cirkularitu sféroïdov. Ide o nenákladnú a ľahko implementovateľnú úpravu protokolu, ktorá zvyšuje reprodukovateľnosť, kľúčový predpoklad skrínigových aplikácií.

### Záver

Odporúčame štandardizovaný protokol na 96-jamkových platniach s 0,24 % MC a počiatčným nasadením ~500 – 1000 buniek/jamka, ktorý spoľahlivo generuje kompaktné, reprodukovateľné PDAC sféroïdy (najmä PaTu-8902, PANC-1). V porovnaní s metódou „hanging-drop“ ponúka ľahšiu manipuláciu, ako aj jednoduchšie a presnejšie dávkovanie testovaných látok. Tieto poznatky poskytujú základ pre rozšírenie modelu pre kvantitatívne hodnotenia viability (CellTiter-Glo® 3D Cell Viability Assay), resp. toxicity (Cell Tox™ Green Dye), ako aj o kokultivácie (napr. CAF, imunitné, endotelové bunky) s cieľom lepšie reprodukovat nádorové mikroprostredie a jeho vplyv na liečebnú odpoveď. Takto nastavená metodika poskytne praktickú a škálovateľnú platformu na skrínig terapeutík a štúdium interakcií v nádorovom mikroprostredí.\*

**\*Podakovanie.** Táto práca bola podporená Európskou úniou v rámci programu NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti Slovenskej republiky, projekt č. 09I03-03-V04-00074.

**Konflikt záujmov:** Autori Lenka VARINSKÁ, Jana SABOVÁ a Matúš ČOMA vyhlasujú, že nemajú žiaden konflikt záujmov.

### Literatúra

1. AIJIAN AP, GARRELL RL. Digital microfluidics for automated hanging drop cell spheroid culture. *J Lab Autom* 2015, 20: 283 – 295.
2. CAVO M, DELLE CAVE D, D'AMONE E, GIGLI G, LONARDO E, DEL MERCATO LL. A synergic approach to enhance long-term culture and manipulation of MiaPaCa-2 pancreatic cancer spheroids. *Sci Rep* 2020, 10: 10192.
3. DASTER S, AMATRUUDA N, CALABRESE D, IVANEK R, et al. Induction of hypoxia and necrosis in multicellular tumor spheroids is

associated with resistance to chemotherapy treatment. *Oncotarget* 2017, 8: 1725 – 1736.

4. GUNTI S, HOKE ATK, VU KP, LONDON NR, Jr. Organoid and spheroid tumor models: Techniques and applications. *Cancers (Basel)* 2021, 13: 874.
5. KORFF T, AUGUSTIN HG. Integration of endothelial cells in multicellular spheroids prevents apoptosis and induces differentiation. *J Cell Biol* 1998, 143: 1341 – 1352.
6. LONGATI P, JIA X, EIMER J, WAGMAN A, et al. 3D pancreatic carcinoma spheroids induce a matrix-rich, chemoresistant phenotype offering a better model for drug testing. *BMC cancer* 2013, 13: 95.
7. MEHTA G, HSIAO AY, INGRAM M, LUKER GD, TAKAYAMA S. Opportunities and challenges for use of tumor spheroids as models to test drug delivery and efficacy. *Journal Control Release* 2012, 164: 192 – 204.
8. SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2020, 70: 7 – 30.
9. YEON SE, NO DA, LEE SH, NAM SW, OH IH, LEE J, KUH HJ. Application of concave microwells to pancreatic tumor spheroids enabling anticancer drug evaluation in a clinically relevant drug resistance model. *PLoS One* 2013, 8: 73345.

Do redakcie došlo 28. 10. 2025.

**Adresa pre korešpondenciu:**  
**RNDr. Lenka Varinská, PhD.**  
Ústav farmakológie LF UPJŠ  
Trieda SNP 1  
040 11 Košice  
E-mail: [lenka.varinska@upjs.sk](mailto:lenka.varinska@upjs.sk)