

## 3D human co-cultures for predicting nanomaterial possible adverse effects on human health with a focus on multi-walled carbon nanotubes

Hana Barošová

Increasing production of nanomaterials raises concerns about the associated hazard. The main concern about nanomaterial hazard is linked to their small sizes, allowing them deep penetration into the body. Although human exposures to nanomaterials can follow different pathways (i.e., dermal, gastrointestinal, etc.), the main route of entry is *via* the respiratory tract, where they can even reach alveoli or cross the air-blood tissue barrier and enter the bloodstream.

Therefore, there is an increasing need for reliable testing strategies to investigate the potential human health effects of nanomaterials under realistic conditions. Occupational exposures occur likely repeatedly at low doses. Therefore the aim of my thesis was to develop an *in vitro* testing strategy including reliable and responsive human alveolar cell culture models, and exposure scenario for repeated long-term exposures of nanomaterials at the air-liquid interface. Several cell culture models have been tested, including monoculture of adenocarcinoma cell line A549 (human type II-like alveolar epithelial cell line), co-cultures combining A549 and immune cells, or fibroblasts, and finally commercially available co-culture model consisting of human primary cells EpiAlveolar™ (MatTek Corporation, USA).

The experimental setup including EpiAlveolar™ model (Fig. 1) and three weeks of repeated nanomaterial exposures presented the most promising tool for future assessment of the fibrotic potential of inhaled nanomaterials.

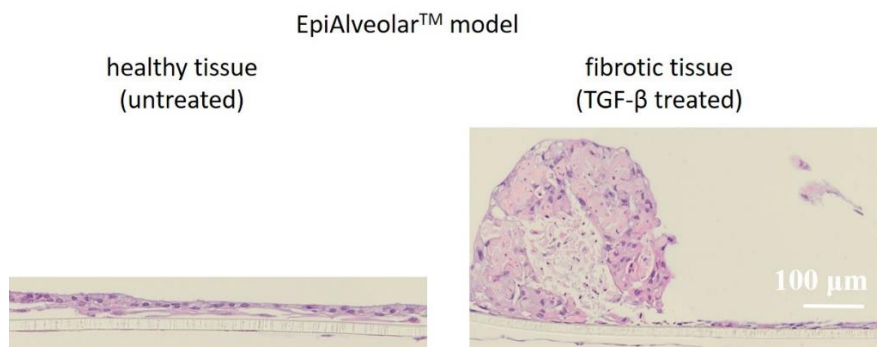


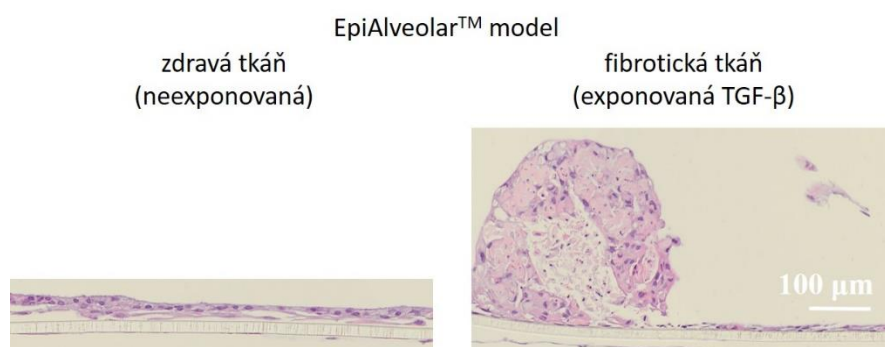
Fig. 1: Hematoxylin and eosin staining showing the thickness of the untreated EpiAlveolar™ tissues ('healthy'), and nodules formation and tissue contraction upon exposure to TGF- $\beta$  ('fibrotic') [source: Barosova *et al.*, 2020, *ACS NANO*].

## 3D lidské kokultury k predikci možných škodlivých účinků nanomateriálů na lidské zdraví se zaměřením na uhlíkaté nanotrubičky

Hana Barošová

Se vzrůstající produkcí nanomateriálů vzrůstají také obavy ohledně bezpečnosti jejich použití, obzvláště kvůli jejich malé velikosti umožňující průnik nanočástic hluboko do lidského organismu. Přestože mohou nanomateriály pronikat do těla různými cestami (např. gastrointestinálně, nebo přes kůži), hlavním vstupem jsou dýchací cesty. Nanočástice mohou pronikat do plicních sklípků a přes ně dále do krevního řečiště. Z tohoto důvodu vzrůstají požadavky na spolehlivé testovací postupy pro zkoumání potenciálních zdravotních efektů nanomateriálů na lidské zdraví za reálných podmínek. K pracovním expozicím dochází pravděpodobně opakovaně a v malých dávkách, proto bylo cílem mé disertace vyvinout *in vitro* testovací strategii zahrnující spolehlivé a citlivé lidské alveolární buněčné modely a opakované dlouhodobé expozice nanomateriálů na rozhraní vzduchu a tekutiny. Několik buněčných modelů bylo otestováno, od monokultur lidské buněčné linie A549 (podobající se alveolárním epitelovým buňkám typu II, derivované z adenokarcinomu), kokultury kombinující buněčnou linii A549 s imunitními buňkami, nebo fibroblasty, po komerčně dostupnou kokulturu sestávající z lidských primárních buněk EpiAlveolar<sup>TM</sup> (MatTek Corporation, USA).

Experiment zahrnující EpiAlveolar<sup>TM</sup> model (Obr. 1) spolu s třítydenními opakovanými expozicemi nanomateriálů se jeví jako nejvhodnější nástroj pro budoucí posuzování fibrotického potenciálu inhalovaných nanomateriálů.



Obr. 1: Obarvení hematoxylinem and eosinem ukazuje tloušťku EpiAlveolar<sup>TM</sup> tkání - zdravých a fibrotických, tj. formaci pecek a tkáňovou kontrakci po expozici TGF- $\beta$  [zdroj: Barosova *et al.*, 2020, *ACS NANO*].