

Redovisning av forskningsanslag

Projekt 54/06

Neuronal cellmodell för detektion av mildt ögonirriterande kemikalier

Anna Forsby, Institutionen för neurokemi, Stockholms universitet, 10691 Stockholm

Den internationellt accepterade metoden för att undersöka ögonirritation bygger på att testkemikalierna appliceras i ögonen på kaniner varefter personal observerar hur hornhinnan och omgivande slemhinnor påverkas enligt ett poängsystem i det sk. Draize's ögonirritationstest. Denna metod anses vetenskapligt bristfällig och innebär ett stort lidande för djuren, vilket har föranlett utvecklingen av flera alternativa metoder. Ingen har dock hittills studerat hur ögonirritation uppstår eller undersökt effekter i känselnerv som finns i hornhinnan och ögats omgivande vävnad. Detta kan vara anledningen till varför kemikalier som inducerar mild ögonirritation inte har kunnat förutbestämmas med celltester tidigare.

Syftet med vårt forskningsprojekt är att undersöka om det är möjligt att identifiera milda, icke vävnadsskadande ögonirriterande kemikalier genom att studera aktiveringen av smärtreceptorn TRPV1. Vi har fört in genen för TRPV1-receptorn i mänskliga tumörceller som har en del nervcellsegenskaper. När man tillsätter capsaicin (det "heta" ämnet i chilipeppar som orsakar svår sveda i ögon) kan man mäta en ökning av kalcium inne i cellerna. "Smärtcellerna" används för att undersöka om receptorn även detekterar mildt ögonirriterande produkter såsom schampo och tvål. Resultaten visar att dessa produkter aktiverar TRPV1 och att det finns ett samband mellan produkternas smärtinduktion i frivilliga försökspersoners ögon och koncentrationen som krävs för TRPV1-aktivering. En analys av enstaka kemikalier i de TRPV1-aktiverande produkterna visade att framför allt natriumlaurylsulfat som är en mycket vanlig fettlösande ingrediens i schampo och tvål specifikt aktiverade TRPV1.

Den djurbesparande nyttan av projektet är att vi verkar ha funnit en mekanism som kan orsaka smärta och mild ögonirritation. Detta har varit ett av de stora problemen vid tidigare utvärderingar av in vitro-modeller för ersättning av ögontestet på kanin, kanske pga att man inte har studerat aktivering av smärtnerv. Metoden kan dessutom användas till utveckling av nya, milda hygienprodukter eftersom vi har identifierat vilken typ av kemikalier som aktiverar smärtreceptorn. Den samhälliga nyttan med projektet är att vi får en snabbare, billigare och mer vetenskapligt relevant utvärdering av kemikaliers ögonirriterande effekter.

Publikationer:

Lilja J. Lindegren H. and Forsby A. (2006). Characterisation of a sensory neuronal model for estimation of mild eye irritation. Poster and abstract. INVITOX-2006. Ostende, Brussels.

Lilja J., Lindegren H. and Forsby A. (2007). Surfactant-Induced TRPV1 Activity A Novel Mechanism for Eye Irritation? *Toxicol Sci* . Sep;99(1):174-80.

Lindegren H., EL-Andalousi-Lilja J. and Forsby A. (2007). A novel mechanistic pathway for surfactant-induced nociception. Abstract and oral presentation at the 25th SSCT workshop, Salzau, Germany

Lilja J., Laulund F. and Forsby A. (2007) Insulin and insulin like growth factor type-I up-regulate vanilloid receptor-1 (TRPV1) in stably TRPV1-expressing SH-SY5Y neuroblastoma cells. *J. Neurosci. Res.* 85, 1413-1419.

Toddo S. and Koistinen N. (2007). Characterisation of TRP channels in SH-SY5Y cells. 5-week project in advanced course in neurochemistry.

A neuronal cell model for estimation of mild eye irritation

Anna Forsby, Department of Neurochemistry, Stockholm University, 10691 Stockholm

The objective of the project is to develop a neuronal cell model for estimation of mild eye irritation by using the nociceptor TRPV1 as a target. The TRPV1 receptor is temperature sensitive but can also be activated by a wide array of chemical stimuli, including the pungent chemical in chili pepper, capsaicin. The human neuroblastoma SH-SY5Y cell line was stably transfected by a TRPV1-encoding pIRES vector and a cell clone with high TRPV1 expression and selective capsaicin-inducible Ca^{2+} currents was isolated. Solutions of ten different hygiene products were applied to the TRPV1 expressing cells with or without the TRPV1 antagonist capsazepine (CZ) and the intracellular free Ca^{2+} concentration was monitored. Shampoos for adults and liquid soap activated TRPV1 at low concentrations, whereas conditioner and baby shampoo did not activate TRPV1-mediated Ca^{2+} influx, indicating that there is a correlation between the irritating capacity of the products and the ability to activate TRPV1 in vitro. Furthermore, we found that sodium lauryl sulfate (SLS) was the chemical that induced TRPV1 receptor mediated Ca^{2+} influx at significantly lower concentration than the concentration inducing non-specific Ca^{2+} influx. Our results indicate that the TRPV1 receptor may be the missing link for estimation of nociception and mild eye irritation by using in vitro methods. Furthermore, the assay may be useful for the development of new, mild hygiene products.