

## **Mirja Salkinoja-Salonen**

*Mirja Salkinoja-Salonen on suomalainen mikrobiologi ja emeritaprofessori Helsingin yliopistosta. Hänelle on myönnetty Aalto yliopiston tekniikan kunniatohtorin arvonimi ja fellow-jäsenyys Yhdysvaltain mikrobiologian akatemiassa (American Academy of Microbiology).*

**Teksti perustuu Mirja Salkinoja-Salosen haastatteluun, tutkimuksiin ja kirjoituksiin. Kirjoittanut Katja Pulkkinen.**

## **Uraauurtavia löydöksiä ja merkittäviä tietoaaukoja – sisäilmasairastumisten arvoitus alkaa aueta**

**Viime vuosina on tehty merkittäviä löydöksiä siitä, miten sisäilma-eräiset aineet voivat vaikuttaa terveyteemme. Mikrobiksiinien aiheuttamista systeemisistä vaikutuksista tarvitaan vielä lisää tietoa. Mitä erityisesti kannattaisi tutkia?**

### **Tiivistelmä**

Sisäilmaongelmissa yhtenä merkittävänä osatekijänä ovat mikrobit ja niiden aineenvaihduntatuotteet kuten mikrobiksiinit. On vielä kiistanalaista, millä mekanismeilla nämä aiheuttavat terveyshaittoja. Aihepiiriä tunnetaan puutteellisesti, mutta viime vuosina on tehty useita merkittäviä tutkimuslöydöksiä, jotka antavat suuntaa jatkotutkimukselle ja saattavat avata tarkemmin niitä mekanismeja, joilla sisäilma sairastuttaa.

Mikrobien aineenvaihduntatuotteiden vaikutukset liittyvät esimerkiksi solun energiatuotannon eri vaiheisiin. Nämä vaikutukset ovat solulle kohtalokkaita, sillä ne kohdentuvat sen toiminnan ja selviämisen kannalta oleellisiin toimintoihin. Pitkään jatkuessaan tämä voi vaurioittaa elimistön toimintoja ja mahdollisesti aiheuttaa myös herkistymistä. Aiheesta tarvitaan lisää tutkimusta. Samankaltaisia toksisuusmekanismeja on havaittu myös muilla kuin mikrobiperäisillä aineilla, esimerkiksi sisätiloissa käytetyillä kemikaaleilla.

Mikrobiksiinien kulkeutuminen sisäilmassa on pitkään ollut mysteeri, ja mikrobien aineenvaihduntatuotteille altistuminen yleisten terveyshaittojen aiheuttajana on kiistanalaista. Viime vuosina on tehty havaintoja siitä, että mikrobit tuottavat toksiineja vesikkeleinä, nestemäisinä rasvaliukoisina rakkuloina ja että nämä voisivat kulkeutua ilmassa vesihöyryyn sitoutuneena. Altistuminen tällaisille aineille saattaa tapahtua hengitysteiden kautta. Aihetta tutkitaan lisää.

---

### **MONIPUOLISET MIKROBIT**

Monenlaiset asunnoissa, työpaikoilla, kouluissa, lastentarhoissa ja erilaisissa hoitolaitoksissa ilmenevät terveyshaitat ovat usein yhteydessä rakennuksen sisäilmaongelmiin.

Tällaisia terveyshaittoja ovat mm. hengitystieoireet, epänormaali uupumus, nivelkivut, kuulon alenema sekä silmä- ja iho-ongelmat.

Mikrobeista, niiden tuottamista aineenvaihduntatuotteista ja näiden terveysvaikutuksista opitaan jatkuvasti lisää. On vielä kiistanalaista, millä mekanismeilla sisäilman mikrobit ja niiden aineenvaihduntatuotteet aiheuttavat terveyshaittoja.

Sisätilakasvustoissa on lähes aina mukana sekä homeita että bakteereja. Näiden sisäilman mikrobin tiedetään erittävän hyvin haitallisiakin aineenvaihduntatuotteita. Näitä kirpoaa sisäilmaan sieltä, missä mikrobikasvustot ovat: rakennusmateriaaleista ja pinnoilta. Niiden myrkyllisyys ihmiselle on tunnustettu tosiasia. Näitä myrkkyyä on mitattu pieninä pitoisuuksina ongelmatalojen sisäilmasta. Keskustelua kuitenkin käydään siitä, mikä on niiden aiheuttama terveysriski käytännön tasolla: kulkeutuvatko mykotoksiinit ja bakteerien aineenvaihduntatuotteet ihmiseen, minkä tyyppisiä ongelmia ne voivat aiheuttaa ja aiheuttavatko ne terveyshaittoja määrällä, jolla niitä sisäilmassa esiintyy.

Mikrobeja tunnetaan kymmeniä tuhansia lajeja. Vähintään yhtä paljon on vielä tuntemattomia mikrobeja, joiden ominaisuuksista emme tiedä mitään. Uusia mikrobeja ja mikrobitoksiineja löydetään joka vuosi.

Mikrobi on aina yhteydessä ympäristöönsä. Kosteusvauriomikrobien osalta esimerkiksi rakennusmateriaalien kemiallinen koostumus ja rakennuksen fysikaaliset olosuhteet kuten lämpötila, kosteus ja hapellisuus ratkaisevat, millaiset mikrobit siinä viihtyvät ja miten ne kulloisissakin olosuhteissa käyttäytyvät. Tämä kokonaisuus ja sen vaikutus mikrobiin ja sen toksisuuteen voi olla yksittäistä mikrobilajia merkittävämpi tekijä sairastumisten selittäjänä.

Sisäilmasairauksissa keskustelu ja arviointimenetelmät niin rakennusten kuin terveyshaittojenkin osalta on vielä pitkälti keskittynyt mikrobeihin. Terveyshaitat eivät kuitenkaan korreloi suoraviivaisesti mikrobin kanssa. Tutkimuksissa on havaittu mikrobin erittävän esimerkiksi hyvin erilaisia toksiineja eri olosuhteissa. Tulokulmaa terveyshaittojen tarkastelussa on laajennettava, jotta sisäilman aiheuttamia terveyshaittoja voidaan ymmärtää kattavammin.

## PELKÄT MIKROBIT EIVÄT SELITÄ TERVEYSHAITTOJA

Olemme tutkineet rakennuksista kerättyjen mikrobiviljelmien sekä joidenkin yleisessä käytössä olevien synteettisten kemikaalien toksisuutta soluviljelmillä.

Tavallisesti käytämme nisäkkäiden primaarisoluja ja solulinjoja selvittäessämme toksisuusvaikutuksia. Käytämme kohdesoluina mm. ihmisen, sian, kissan, koiran ja hiiren soluja sekä eristettyjä mitokondrioita.

Vaikutukset soluille analysoidaan laboratorioissa *in vitro*, eli lasimaljalla, kuoppalevyllä tai koeputkessa. Toksisuus ilmoitetaan vaikuttavana pitoisuutena (effective concentration), EC<sub>50</sub>, eli pitoisuutena, joka tarvitaan, jotta yli puolet altistetuista soluista vaurioituu. Pienempi lukema kertoo siis suuremmasta myrkyllisyydestä.

Keskeinen löydöksemme on ollut, että terveyshaitat eivät näytä korreloivan rakennuksista löydettyihin mikrobilajeihini, vaan sisätilanäytteestä todettuun toksisuuteen. Näytteenottotekniikka on tärkeä. Viime vuosien aikana on selvinnyt, että sisätilojen homeet erittävät toksiinejaan pisaroina, joiden sisältämä tahmainen neste on jopa 1000-kertaa toksisempaa verrattuna samojen homelajien itiöihin. Tämän kaltainen pisaralevintä tunnetaan ennestään kasvitauteja levittävästä homeista: tahmapisararat tarttuvat pinnoille ja etäkulkeutuvat vesihöyryn mukana. Olemme tutkimuksia varten keränneet toksista sisäilman vesihöyrytiivistettä rakennuksista, joissa on ilmennyt terveysongelmia. Itiöiden esiintyminen sen sijaan on yleistä myös rakennuksissa, joissa terveysongelmia ei esiinny.

Olemme selvittäneet tarkemmin sisäilmasta löytyvien aineiden rakennetta, toimintaa ja vaikutuksia. Olemme eristäneet mikrobin tuottamia aineita eri maissa rakennuksista, joissa on esiintynyt terveyshaittoja. Nämä aineet osoittautuivat tutkimuksissamme lämpöstabieleiksi, rasvaliukoiseksi ja rakenteeltaan muun kuin proteiinin kaltaisiksi molekyyleiksi.

Esimerkiksi tällaisia mikrobitoksiineja on tähän mennessä löydetty:

Mikrobi:	Sen tuottama toksiini:
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Trilongiini-peptabolit
<i>T. harzianum</i> , <i>T. atrovirdiae</i>	Peptaibolit E39, trikortsianiinit
<i>Chaetomium globosum</i>	Ketoglobosiinit, sterigmatokystiini

<i>Acremonium exuviarum</i>	Akrebolit
<i>Aspergillus westerdijkiae, A. versicolor</i>	Okratoksiini a, stefasidiinit, sterigmatokystiini
<i>Paecilomyces variotii</i>	Viriditoksiini
<i>Penicillium expansum</i>	Sitriniini, kommunesiini
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Amylosiini
<i>Bacillus cereus</i>	Kereulidi
<i>Streptomyces griseus</i>	valinomysiini

Mikrobien ja kemikaalien solutoksisuutta voidaan mitata. Mikään laboratoriossa käytetty solu ei ole yleispätevä vaikutusten arviointiin. Kustakin solusta voidaan mitata vain ne funktiot, joita juuri siinä solussa on. Kaikilla soluilla voidaan mitata tappavuutta (solukuoleman aiheuttavaa pitoisuutta), mutta toimintahäiriövaikutuksia voidaan mitata vain sellaisilla soluilla, joilta löytyy kulloinkin mitattava toiminto: esimerkiksi siittiöillä voidaan mitata liikuntakyvyn häiriöitä, immuuni-järjestelmän soluilla elimistön puolustuskyvyn kannalta tärkeitä toimintoja kuten sytokiinien sekä kemokiinien tuottoa ja haiman beta-soluilla insuliinintuoton häiriöitä. Meillä on laboratorikäytössä vain 8 erilaista solua. Vielä ei tiedetä, miten kaikki erilaiset solut reagoivat saamaansa toksini-altistukseen ja mitä tämä tarkoittaa kokonaisessa ihmisessä.

## REIKIÄ SOLUKALVOIHIN JA MUITA VAURIOITA

Soluilla on kuitenkin havaittu monenlaisia seurauksia mikrobitoroksiineille altistumisesta. Esimerkiksi *Trichoderma longibrachiatum* -homeiden tuottamat trilongiini-peptabolit muodostavat ionikanavia solukalvoihin. *Acremonium exuviariumin* tuottama akreboli estää elektroninsiirtoketjun toimintaa mitokondriossa ja häiritsee täten solun ATP-tuotantoa. *Paecilomyces variotii* -homeiden tuottaman viriditoksiinin tiedetään estävän solussa oksidatiivisen fosforylaation, eli sekin häiritsee energiantuotantoa solussa.

Toksisuudesta kertovia mitattavia vaikutuksia solussa ovat solun hapenottokyky, kalvojen sähkövaraukset, glukoosin kulutus, mitokondrioiden kyky tuottaa kemiallista (ATP) tai sähköistä energiaa ja solun jakautumis- eli uusiutumiskyky. Näiden toimintojen vaurioituminen ilmenee mm. seuraavina aineenvaihdunnan häiriöinä:

- solujen hapenkulutuksen kiihtyminen
- maitohapon liikatuotto soluissa, pH:n lasku kudoksissa tai veressä (aerobinen glykolyysi),
- glukoosin kulutuksen nousu
- pelkistysekvivalenttien kertyminen soluihin
- reaktiivisten happiradikaalien tuotto (vetyperoksidi, hydroksyyliiradikaalit, superoksidi-anioni)
- myrkyllisten solun sisäisten aineenvaihduntatuotteiden tuotto (mm. karbonyylit kuten metyylyglyoksaali)
- reaktiivisten dikarboonylien tuotto
- solukuoleman kiihtyminen
- kaliumionien vuoto soluista.

Monella mikrobitoroksiinilla on moninaisia vaikutuksia soluun. Tutkimuksissamme esimerkiksi altistettaessa koesoluja *Trikoderma*-homeiden tuottamille toksineille sekä amyloosiinille:

- Solukalvoihin muodostui patologisia kalium-ionikanavia
- Mitokondrion kalvojännite depolarisoitui (kaliumionien sisään virtaamisen vuoksi)
- Liikkuvat solut lopettivat liikkumisen
- Oksidatiivinen fosforylaatio eli yksi solun energiantuotannon tärkeistä vaiheista salpaantui, johtaen lopulta kaliumin ulosvuotoon solusta.

Akrebolit sen sijaan eivät vaikuttaneet tähän ionitasapainoon, vaan:

- Salpasivat elektroninsiirtoketjun ubikinonista sytokromi b:hen, mikä vaikuttaa solun energiantuotantoon
- Vähensivät solun ATP-varoja häiritsemällä ATP-synteesiä mitokondrion  $F_1F_0$ -ATPaasissa, eli vähensivät solun energiavaroja.

Kereulidi ja valinomysiini taas kykenevät läpäisemään solukalvon ja kuljettamaan kaliumioneja sen lävitse. Kun soluja altistettiin näille kaliumionikuljettajille:

- Liikkuvat solut immobilisoituivat minuuteissa
- ADP-välitteinen oksidatiivinen fosforylaatio lakkasi
- Hapen ja glukoosin kulutus nousi (uncoupling effect)
- Solu siirtyi metabolisen asidoosin tilaan
- Mitokondriot depolarisoituivat eli menettivät kalvojännitteensä ja turposivat.

Kaikki nämä vaikutukset ovat solulle kohtalokkaita, sillä ne kohdentuvat sen toiminnan ja selviämisen kannalta oleellisiin toimintoihin.

Useat löytämistämme aineista ovat mitokondriotoksisia. Mitokondriot ovat solun energiakeskuksia, joiden vaurioituminen on solulle kohtalokasta. Mitokondrioihin vaikuttavia toksineja löytyi homeista, joita eristettiin kosteusvaurioituneista ympäristöistä, mutta myös erilaiset synteettiset kemikaalit voivat olla mitokondriotoksisia.

Muualle kuin mitokondrioihin vaikuttavien toksienien tuottajiksi ovat osoittautuneet *Aspergillus versicolor* (tuottaa sterigmatokystiiniä), *Aspergillus westerdijkiae* (tuottaa avrainvillamide-toksiinia ja stephadiisiini B:ta) ja *Stachybotrys chartarum* (tuottaa trikotekeenitoksiinien lisäksi ei trikotekeeni-tyyppisiä myrkköjä).

Laboratoriossa mittaamamme *A westerdijkiae* tuottamien toksienien vaikutukset olivat noin 100 kertaa vahvempia kuin aiemmin tunnetut stefadiisiini A:n, sterigmatokystiinin ja okratoksiinin toksisuudet.

Kaikki nämä löydökset on tehty laboratoriossa soluilla. Käytämme etupäässä primäärisoluja, jotka eristetään suoraan elävästä elimistöstä: siittiösoluja (sika) ja verisoluja (eristetään ihmisen veren valkosoluista). Käytämme etupäässä sellaisia solulinjoja, jotka eivät ole syöpäsoluja (ihmisen keratinosyytit, sian munuaistubulussolut). Solupankkien syöpäsolulinjoja käytämme apuna silloin, kun vastaavaa normaali-solua ei ole saatavissa. Solupankeista ostetut solulinjat ovat lähes aina syöpäsolujohdannaisia, ja eivät ole yhtä herkkiä solumyrkyille kuin ”terveet” normaalisolut.

Millaisia toksienimääriä sisäilmassa esiintyy ja miten tämä vaikuttaa eläviin organismeihin, ei vielä tiedetä.

Olemme tutkineet myös muiden kuin mikrobiperäisten aineiden toksisuutta.

Esimerkiksi triklosaani eli 2,4,4'-trikloori-2-hydroksidifenyylietteri on rasvaliukoinen antimikrobinen aine, jota käytetään esimerkiksi kodin kemikaaleissa ja hygieniatuotteissa. Triklosaani on myös mitokondriotoksinen aine. Havaitimme sen depolarisoivan mitokondrion kalvojännitteen ja aiheuttavan metabolista asidoosia eli happamoitumista pieninä pitoisuuksina (alle  $0.3 \mu\text{M}$  ( $< 1 \mu\text{g ml}^{-1}$ )).

Desinfiointiin käytetyt biosidit PHMG (polyheksametyleeniguadiniini) ja PHMB (polyheksametyleenibiguanidiini) taas sekoittavat solun sokeriaineenvaihduntaa alle  $< \mu\text{g ml}^{-1}$  pitoisuuksina. Kummatkin aineet estivät solun proliferaation (kasvun seurauksena tapahtuva lisääntyminen) ja aiheuttivat nekroottisen solukuoleman keuhkojen epiteelisoluissa alle  $1 \mu\text{g ml}^{-1}$  pitoisuuksina.

## MAHDOLLISIA HERKISTYMISEKANIISMEJA JA LISÄTUTKIMUKSEN TARVETTA

Mikrobien tuottamien toksiinien vaikutukset ovat moninaisia. Toksisille aineille altistuttaessa monet elimistön toiminnot saattavat häiriintyä. Esimerkiksi sydämen toimiessa normaalisti sen solujen pääenergianlähteenä toimivat rasvahapot ja tärkein energianlähde on ATP, josta suurin osa tuotetaan oksidatiivisen fosforylaation avulla. Tiedetään, että mitokondriotoksiset ATP-tuotantoa heikentävät yhdisteet vaikuttavat mm. sydämen, keskushermoston ja lihaksiston toimintaan, koska näiden kudosten energia-aineenvaihdunta on suuri.

Toksisuudella saattaa olla vaikutuksia myös herkistymiseen ympäristötekijöille, ja altistuminen toksisille ympäristötekijöille saattaa vaikuttaa sisäilmasta sairastuneiden monisyisiin oirekuviin ja liitännäissairauksiin. Aiheesta ei kuitenkaan vielä tiedetä tarpeeksi, mutta esimerkiksi seuraavat tapahtumaketjut voisivat olla aiheen tiimoilta hyödyllisiä jatkotutkittavia.

Kaikissa nisäkässoluissa solun sisäisen kaliumin ( $\text{K}^+$ ) määrä on 30 kertaa suurempi kuin solun ulkopuolisessa nesteessä, kuten veren plasmassa – ero jota solukalvon ATP-voimin ylläpitävät pumpit ja kaliumkanavat ylläpitävät. Sisäilman sisältämät toksiset aineet voivat heikentää sekä ATP-tuotantoa että toimia kaliumioniforeina eli kaliumionitasapainoa häiritsevinä aineina. Kun ATP-tasot vähenevät, kalium vuotaa solusta kohti vähäisempää pitoisuutta, vähentäen solun sisäisen kaliumin tasoja.

Esimerkiksi keuhkojen alveoleissa tai iholla keratinosyyteissä paikallinen muutos kalium-ionitasoissa käynnistää tulehdusvälittäjäaineiden, sytokiinien, vapautumisen.

Mitokondrioiden toimintaongelmissa ATP-tuotantovajausta voi korvata glykolyysillä, mutta sen oheistuotteena syntyy maitohappoa, ja vaikka pH ei putoaisikaan happaman puolelle, solun ulkopuolisen laktaatin tiedetään heikentävän veren tärkeimpien puolustussolujen, monosyyttien, liikkumista ja käynnistävän pro-inflammatorisen IL6-sytokiinin tuotantoa.

Olemme havainneet<sup>1</sup> ihmisen makrofagien alkavan tuottaa amyloidiinialtistuksessa sytokiineja (IL-1 $\beta$  ja IL-18) jo kahdessa tunnissa.

Tämä voi viitata inflammasomin aktivoitumiseen luontaisen immuunijärjestelmän solussa. Immuunisolun toiminta on tarkan säätelyn alaista. Inflammasomin tehtävä solussa on aistia solun sisäisiä vaarasignaaleja ja hätätilanteen kohdatessa vapauttaa ulkopuolelleen tulehdusreaktiota ja kuumetta aiheuttavia interleukiineja (IL). Sytokiinien avulla immuunijärjestelmä ohjaa elimistöä, ne ovat osa luontaista immuniteettia. Tämä oli ensimmäinen tutkimus laatuaan ja aiheesta tarvitaan lisätutkimusta. Ei vielä tiedetä, voiko inflammasomin aktivoituminen jollain tavoin liittyä herkistymiseen ympäristötekijöille.

Toinen mielenkiintoinen lisätutkimusta vaativa alue on asidoosi, solun siirtyminen anaerobiseen energiantuotantoon ja siitä mahdollisesti seuraavat haitat pidempiaikaisessa altistumisessa.

Mitokondrioiden toiminnan heikentymiseen voi liittyä asidoosia. ATP eli solun energianvaranto on lähes täysin (94 %) mitokondrioiden tuottamaa. Energiantuotannon aikana parikymmentä eri entsyymiä katalysoi ketjureaktiota, jossa glukoosi muutetaan ensin pyruvaatiksi ja siitä monien vaiheiden kautta ATP:ksi, solulle käyttökelpoiseksi energiaksi.

Toksiinit voivat vaikuttaa tässä ketjussa moneen eri kohtaan, jolloin energiantuotanto häiriintyy tai lakkaa kokonaan.

Kun solu ei kykene tuottamaan energiaa mitokondrioiden välityksellä, esimerkiksi toksiinien vaurioittaessa jotakin mitokondrioiden energiantuotantoketjun vaihetta kuten oksidatiivista fosforylaatiota tai elektroninsiirtoketjua, solu joutuu tuottamaan energiaa anaerobisesti. Tämä tarkoittaa, että energiaa tuotetaan glykolyysistä ilman sitä

seuraavaa mitokondriokäsittelyä. Tämä on vähemmän tehokas energiantuottotapa kuin mitokondriossa tapahtuva aerobinen energiantuotanto, ja siinä poltetaan enemmän glukoosia.

Aerobisessa tuotannossa yhdestä glukoosimolekyylistä tulee mitokondrion kautta 30 ATP-molekyyliä, mutta anaerobisesti ATP-energiaa saadaan samasta glukoosimäärästä vain 2 molekyyliä. Tehottomuudestaan huolimatta anaerobinen energiantuotanto on evoluution aikana kehittynyt tärkeä varajärjestelmä tilanteisiin, joissa happea ei ole saatavilla. Muutoin solut vaurioituisivat ja kuolisivat hapenpuutteen aikana, esimerkiksi vaativan urheilusuorituksen seurauksena tai verenkierron estyessä johonkin kehon osaan. Tällä menetelmällä saadaan tuotettua 6 % ”normaalienergiasta”, mutta energiantuotannon sivutuotteena syntyy maitohappoa.

Vereen asti päässeenä maitohappo ei hapellisissakaan oloissa palaudu, koska veren punasoluilla ei ole mitokondrioita<sup>2</sup>. Näin syntyy vaara, että maitohappoa kertyy vereen ja veri siis happamoituu (asidoosi). Jos ihminen altistuu jatkuvasti mitokondrioiden toimintaa häiritseville aineille, tämä voi johtaa erilaisten vaikutusketjujen käynnistymiseen. Pieni pH:n lasku voi aiheuttaa mm. sytokiini-myrskyä, koska on havaittu esimerkiksi, että solun ulkopuolinen hapan pH aktivoi ihmisen luontaisen immunitietin soluissa, kuten makrofageissa, NLRP3-inflammasomin muodostumisen ja sen seurauksena interleukiinien tuoton.

Alustavissa tutkimuksissamme mittasimme glukoosinottoa eri soluilla ja eri aineille altistuttaessa. Jotkin myrkyt pysäyttivät solun glukoosinoton ja jotkin puolestaan kiihdyttivät sitä. Esimerkiksi triklosaani depolarisoi mitokondriot, kaksinkertaisti glukoosin kulutuksen ja sen seurauksena aiheutti solussa metabolisen asidoosin. Tarkempaa mekanismia selvittäessä ilmeni seuraavaa: Tutkittaessa rottien maksan mitokondrioilla triklosaaniin vaikutuksia havaitsimme, että triklosaani heikensi mitokondriossa oksidatiivista fosforylaatiota ja ATP-tuotantoa, vaikka se lisäsi huomattavasti hapen kulutusta (=irtikytkentä reaktio, uncoupled respiration).

Aineet vaihtelevat vaikutuksiltaan, esimerkiksi *Penicillium expansum* homeen aineenvaihduntatuotteet estivät glukoosinoton, joten solu ei kyennyt käyttämään glukoosia omaan aineenvaihduntaansa. Sen sijaan *Paecilomyces variotii* homeen tuottamat toksiinit taas pakottivat solun käyttämään enemmän glukoosia, mistä voi seurata verensokerin alentuminen alle terveydelle turvallisen tason.

Haiman beetasolujen tiedetään menevän kereulidialtistuksessa apoptoosiin. Nämä solut, jotka tuottavat insuliinia, eivät uusiudu. Insuliinia tuottavat beetasolut eivät voi mennä asidoosiin, sillä haimasoluilla ei ole tätä anaerobisen energiantuotannon hätäventtiiliä. Sytoplasman pH ei voi haimassa laskea, koska insuliinin varastot sijaitsevat haiman beetasolujen sisällä ohuen kalvon ympäröimissä rakkuloissa, jotka eivät kestä pH:n laskua. Rakkulat reagoivat pH:n laskuun ja pH:n laskiessa insuliini purkautuisi ulos, mistä seuraisi insuliinishokki. Esimerkiksi triklosaani-altistuksessa haiman beetasolut menivät asidoosin sijasta nekroosiin, eli ne kuolivat hallitsemattomasti. Triklosaani myös depolarisoi mitokondriot, lamautti solun energiantuotannon, lisäsi glukoosinottoa ja aiheutti tämän seurauksena metabolisen asidoosin.<sup>3</sup> Metabolista asidoosia on havaittu myös mikrobimyrkyjen aiheuttamana nisäkässoluissa<sup>4</sup>.

Vastaavalla tavoin uusiutumattomia soluja on muuallakin elimistössä. Esimerkiksi osa kilpirauhasen ja keskushermoston soluista sekä sisäkorvan kuuloelimen karvasolut eivät kykene uusiutumaan. Ääreishermosto uusiutuu, mutta hyvin hitaasti. Aivoissa on solutuholta suojaavia tuplarakenteita, mutta jos ne menetetään, seuraa vakavia ongelmia. Vaikuttamalla esimerkiksi kilpirauhasen ja haiman toimintaan toksiinit voivat aiheuttaa monenlaisia häiriöitä.

Jos mitokondrio ei voi toimia, se voi käynnistää mitofagoosin, mitokondrion ohjelmoidun kuoleman. Tämä on hyödyllinen reaktiojärjestelmä, sillä mitokondriot voivat lisääntyä – näin vaurioituneet yksilöt uusitaan ja korvataan toimintakykyisillä. Voidaan olettaa, että pieni altistus vaikuttaa vain osaan mitokondrioita. Jos taas altistuminen on voimakasta eikä jossain elimessä enää ole riittävästi potentiaalia tuottamaan vaurioituneiden tilalle uusia mitokondrioita, alueella voi tapahtua vaurioita ja muutoksia sen biokemiassa. Tästä voi mahdollisesti seurata myös herkistymistä.

Vaurioituessaan solu voi mennä apoptoosiin. Apoptoosilla tarkoitetaan ohjelmoitua solukuolemaa - solu kuolee säädellysti, ja se pilkotaan järjestelmällisesti elimistölle uusiksi rakennusaineiksi.

Jos koko solu tuhoutuu, osa uusiutuu hyvin osa huonosti. Solut kestävät toksiineja hyvin vaihtelevasti ja erityyppiset toksiinit vaikuttavat elimistön eri osissa eri tavoin.

Jatkuva altistus merkitsee usein apoptoosia, mutta voimakas altistus voi johtaa myös nekroosiin. Nekroosi on ohjelmoimaton solukuolema, jossa solut turpoavat ja hajoavat kontrolloimattomasti. Kuolleiden solujen kappaleita ei kuulu olla elimistössä. Nekroosi johtaakin tulehdusreaktioon. Jos nekroosia tapahtuu paljon, eli kun elimistössä on paljon sen omia hajonneita soluja, puolustusjärjestelmä saattaa myös oppia reagoimaan omia solujaan vastaan, mikä on autoimmunisaation perusta.

Näitä havaintoja ei voida yksiselitteisesti yleistää ihmiskehoon, aiheesta tarvitaan huomattavasti lisää tutkimusta. Ne kuitenkin kertovat erilaisista mahdollisista vauriomekanismeista ja voivat auttaa kohdentamaan lisätutkimusta, kun halutaan ymmärtää ympäristöperäisten herkistymissairauksien taustamekanismeja.

## **ILMANKOSTEUTEEN SITOUTUNEET MYRKKYPISARAT MAHDOLLISIA HAITTOJEN KULJETTAJIA**

Merkittävä tietoaikko sisäilmatekijöihin liittyvään altistumiseen liittyen on tällä hetkellä siinä, missä määrin erilaisia toksiineja esiintyy sisäilmassa ja miten ne mahdollisesti kulkeutuvat rakennuksessa oleilevaan ihmiseen.

Mikrobien aineenvaihduntatuotteet, joita tässä on käsitelty, ovat hydrofobisia, vettä hylkiviä. Sen vuoksi ne tarttuvat veden ja ilman rajapintaan ja niiden voidaan olettaa kulkeutuvan rakennuksessa ilmankosteuden mukana, eli pienten pisaroiden rajapinnassa. Kun ilmassa olevaa mitokondriotoksista ainetta hengitetään, hengitetty toksiini saattaa lamauttaa keuhkojen värekarvatoiminnan. Koska värekarvojen tarkoitus on poistaa hengitettyjä partikkeleja hengitysteistä, värekarvojen liikkumattomuus nostaa altistustasoja. Alveolien eli keuhkorakkuloiden solut voivat myös vaurioitua toksisten mekanismien kautta. Maksa puhdistaa ruuansulatuskanavaan joutuneita haitta-aineita, aivoja suojaa veri-aivo-este, mutta hengitysilman kautta saadut haitta-aineet kulkeutuvat verenkiertoon ja siten mm. sisäelimiin - jos keuhkojen värekarvojen toiminta ei tehoa. Pitkään on oletettu, että toksiinit kulkevat ilmassa itiöiden ja mikrobien solujen mukana. Kuitenkin tutkimuksissa, joissa itiöitä vähennettiin ilmasta, terveyshaitat eivät vähentyneet itiöpitoisuuden vähenemisen mukana. Myöskään sisäilman mikrobipitoisuudet eivät usein korreloi terveyshaittoihin. Vakavien sisäilmaperäisten terveyshaittojen aiheuttaja on edelleen epäselvä, mutta viime aikoina aiheesta on saatu kiinnostavaa näyttöä. Vuonna 2008 raportoitiin<sup>5</sup> sisäilmasta mitatun *Stachybotrus chartarumin* tuottamia toksiineja. Myöhemmin tutkijat raportoivat, että *Stachybotrus* eritti toksiineja nestemäisinä pisaroina, itiöiden sijaan.

Myös meidän tutkimuksissamme on löytynyt mikrobien erittämiä nestepisaroita. Kasvatimme sisätiloista kerättyä *Penicillium expansum* -mikrobia maljalla, ja se eritti pisaroita, jotka totesimme viljelymaljoilla toksisiksi sian munuaisepiteelisoluille ja siittiösoluille, kissan keuhkosoluille ja hiiren neuroblastoomasoluille. Soluvaurioita aiheutui pisaroiden 1 000-10 000 -kertaisilla laimennoksilla. Näistä pisaroista, eksudaateista, löytyi toksiineista ketoglobosiinia ja kommunesiineja A, B ja D. Samoja toksiineja on aiemmin raportoitu löytyneen *Penicillium expansum* -viljelmistä, joita on eristetty elintarvike- ja sisäilmanäytteistä.

Yleisesti ottaen vesikkelit ovat olennainen toksiinien kulkeutumistapa eri pieneliöillä. Bakteeripatologian julkaisuissa on puhuttu jo muutamia vuosia bakteerien virulenssimekanismista. Ihmisen veressä olevat bakteerit ”ampuvat” nanokokoisia vesikkeleitä, myrkkyrakkuloita, jotka rasvaliukoisina läpäisevät solukalvon. Tämä on universaali ilmiö – kaikki eliöt, jotka voivat toista vahingoittaa, käyttävät sitä.

Aloimme pohtia tämän kaltaisen mekanismin koskevan mahdollisesti myös sisäilman mikrobeja, kun joissakin ongelmatiloissa myrkyllisyys oli osalla vaaka- ja pystypinnoista tehdyissä pyyhintänäytteissä sama. Se ei viitannut pölyn laskeutumiseen, vaan tahmaan, rasvaliukoiseen aineeseen, joka kykenee takertumaan myös pystypinnoille, hieman samaan tapaan kuin rasvainen lika keittiössä.

Saimme tutkimuksissamme selville, että mikrobien tuottama ”myrkkypussi”, vesikkeli, tosiaan liikkuu vesihöyryn mukana ilmassa pieninä pisaroina. Koeasetelmassa vesikkeli siirtyi pinnalta vesihöyryn mukana ilmaan ja kondensoitui lopulta pisarana toiselle pinnalle.

Veden fysikaaliset ominaisuudet mahdollistavat tämän. Vesi ei ole tavallisesti pelkkää höyryä, vaan sadan ja nollan asteen välillä on vettä erilaisina nesteinä ja kaasun välimuotoina, joissa vesi esiintyy ilmassa lämpötilasta riippuen erilaisina ryppäinä.

Veden ja ilman rajapinta on hydrofobisin rajapinta mitä maailmassa on. Tämä on fysikaalisen kemian lainalaisuus, vesi toimii näin. Veden ja ilman rajapinta on hydrofobinen, koska vesimolekyyli on dipoli, johon vety- ja happimolekyylit eivät ole asettuneet symmetrisesti. Vetymolekyylit osoittavat ulospäin, hapet taas ovat tykönään.

Koko tämä molekyyli käyttäytyy kuin öljy. Eli se voi kuljettaa mukanaan rasvaliukoisia molekyylejä, ja on hyvä kuljettaja näille rasvaliukoisille molekyyleille.

Tutkimuksessamme selvisi, että mikrobien tuottama vesikkeli siirtyy ilman välityksellä lämpimästä viileää kohti, eli kykenee kulkemaan ilmassa vesihöyryn mukana.

Ilman kosteus ei siis mahdollisesti ole ongelma vain homeiden kasvun vuoksi, vaan se voi toimia myös toksiinien kuljettajana. Sisäilman vesihöyrystä kondensoidun veden toksisuuden mittaaminen voi mahdollisesti olla yksi tapa arvioida sisäilman terveyshaittoja. Aiheesta tarvitaan lisää tutkimusta.

Ei vielä tiedetä, kuinka tehokkaasti vesikkeli pääsee ihon läpi, mutta keuhkojen alveoleissa ei ole mitään katetta päällä. Vesikkeli pääsee sinne kulkeutuessaan siellä suoraan soluun, sen erottaa verenkierrosta vain hyvin ohut kalvo.

Farmakologit ovat tienneet jo ainakin 30 vuoden ajan, että rasvaliukoiset myrkyt ovat hengitettynä huomattavasti myrkyllisempiä kuin syötynä. Iho on toksiinien kulkeutumiskanavana näiden kahden väliltä. Ihminen voi usein turvallisesti syödä annoksen, joka hengitettynä olisi tappavan myrkyllinen.

Mikrobitoksiinien kulkeutumisesta vesihöyryn mukana kertoo myös vuonna 2015 julkaistu tutkimuksemme. Siinä näytimme, kuinka *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus calidoustus* ja *Penicillium expansum* -mikrobeja kasvavan rakennuksen sisäilman vesihöyrystä tiivistetty vesi sisälsi aineita, jotka olivat akuutisti toksisia soluille, jotka tälle kondensoidulle vedelle koeoloissa altistettiin.

Toistaiseksi sisäilman kautta saatavassa hengitystiealtistumisessa on keskitytty vain haihtuviin yhdisteisiin (VOC). Mikrobitoksiinien lisäksi osa terveydelle haitallisista kemikaaleista voi olla heikosti haihtuvia, rasvaliukoisia, mutta kulkeutua vesihöyryn mukana.

Sisäilman vesihöyrystä kondensoidun veden käyttöä menetelmänä terveysriskien tutkimuksessa tarvitaan nyt enemmän, jotta aiheesta saadaan lisää tietoa. Tällä tavoin saadaan mahdollisesti täytettyä niitä aukkoja, joita tällä hetkellä on sisäilmaperäisten sairaustapausten ymmärtämisessä.

## Lähteitä ja lisälukemista:

Julkaisu, jossa on koottu yksiin kansiin Mirja Salkinoja-Salosen elämäntyötä ja kuvattu alan tutkimusta ja oleellisia jatkotutkimustarpeita:

### **Diagnostisia työkaluja rakennusten patologiaan**

Mirja Salkinoja-Salonen

Mikrobiologian julkaisuja 50, Helsingin yliopisto

Pdf: ISBN 978-952-93-7928-6



Salkinoja-Salosen tutkimuksia:

[https://tuhat.halvi.helsinki.fi/portal/fi/persons/mirja-salkinojasalo\(1d33f151-eb46-4cae-bd28-5cb1fd14fcb9\).html](https://tuhat.halvi.helsinki.fi/portal/fi/persons/mirja-salkinojasalo(1d33f151-eb46-4cae-bd28-5cb1fd14fcb9).html)

Englanninkielinen artikkeli trilongiinien toksisuusvaikutuksen löytämisen merkityksestä terveystaitojen ymmärtämisessä:

Bob Weinhold: "Trilongins" Offer Insight into Mold Toxicity

Environmental Health Perspectives. 2013 Feb; 121(2): a44.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3569696/>

Muuta:

Kong X, Tang X, Du W, Tong J, Yan Y, Zheng F, Fang M, Gong F, Tan Z. (2013) Extracellular acidosis modulates the endocytosis and maturation of macrophages. Cellular Immunology. 2013 Jan;281(1):44-50.

Rajamäki K, Nordström T, Nurmi K, Åkerman KE, Kovanen PT, Öörni K, Eklund KK.(2013) Extracellular acidosis is a novel danger signal alerting innate immunity via the NLRP3 inflammasome. Journal of Biological Chemistry. 2013 May 10;288(19):13410-9.

Tekstissä esiintyvät lähteet:

1. Rasimus-Sahari S, Teplova VV, Andersson MA, Mikkola R, Kankkunen P, Matikainen S, Gahmberg CG, Andersson LC, Salkinoja-Salonen M, ed Schaffner DW. (2015) **The Peptide Toxin Amyloisin of *Bacillus amyloliquefaciens* from Moisture-Damaged Buildings Is Immunotoxic, Induces Potassium Efflux from Mammalian Cells, and Has Antimicrobial Activity.** Applied and Environmental Microbiology, 81(8):2939-2949.
2. David L. Nelson, Michael M Cox: **Principles of biochemistry**, 4th ed. Lehninger, Wh Freeman & co, New York, luku 14.1. Glycolysis, sivut 523 ja 528.
3. Ajao C, Andersson MA, Teplova VV, 1, Nagy S, Gahmberg CG, Andersson LC, Hautaniemi M, Kakasi B, Roivainen M, Salkinoja-Salonen M. (2015) **Mitochondrial toxicity of triclosan on mammalian cells.** Toxicology Reports, 2:624–637.
4. Rasimus-Sahari S, Mikkola R, Andersson MA, Jestoi M, Salkinoja-Salonen M. (2012) **Streptomyces strains producing mitochondriotoxic antimycin A found in cereal grains.** International Journal of Food Microbiology, 218:78-85
5. Gottschalk C, Bauer J, Meyer K. (2008) **Detection of satratoxin g and h in indoor air from a water-damaged building.** Mycopathologia, 166(2):103-7.