



ENTEROVIRUKSET JA TYYPIN 1 DIABETES

Power Point –esitys DIPP-
tutkimusryhmälle

Sallamari Henttinen

Opinnäytetyö
Lokakuu 2013
Bioanalytiikan koulutusohjelma

TAMPEREEN AMMATTIKORKEAKOULU
Tampere University of Applied Sciences

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma
10SBIO

HENTTINEN, SALLAMARI:
Enterovirukset ja tyypin 1 diabetes
Power Point -esitys DIPP-tutkimusryhmälle

Opinnäytetyö 57 sivua
Lokakuu 2013

DIPP eli Diabetes Prediction and Prevention on tyypin 1 diabetesta ennustava ja ehkäisevä tutkimusprojekti, joka on ollut toiminnassa jo vuodesta 1994 lähtien. DIPP-tutkimus on pitkäaikaisin tyypin 1 diabeteksen seurantatutkimus, jossa kartoitetaan sairauden eri riskitekijöitä. Tyypin 1 diabeteksen puhkeamisen syyksi epäillään geneettistä tautiperimää yhdessä erinäisten ympäristötekijöiden kanssa. DIPP-tutkimuksessa seurataan lapsia, joilla on geneettisesti kohonnut riski sairastua tyypin 1 diabetekseen. Tällä hetkellä tutkimuksessa on mukana valtakunnallisesti yli 8000 lasta, joista noin 600 on sairastunut diabetekseen.

Opinnäytetyö tehtiin yhteistyössä Tampereen yliopistollisen sairaalan (TAYS) lastentautien tutkimuskeskuksen DIPP-tutkimusryhmän kanssa. Opinnäytetyön tarkoituksena oli syventää DIPP-tutkimusryhmässä työskentelevien henkilöiden tietämystä enteroviruksista ja niiden yhteydestä tyypin 1 diabetekseen tekemällä teoriatietoon pohjautuva raportti ja Power Point –esitys aiheesta. Raportin ja Power Point –esityksen avulla tavoitteena oli lisätä rutiinityön merkityksellisyyttä tutkimuspainotteisessa työympäristössä.

Työ toteutettiin toiminnallisena opinnäytetyönä, joka koostuu raportista ja tuotoksesta. Raportissa käsitellään DIPP-tutkimusryhmää, tyypin 1 diabeteksestä, taudin autovasta-aineita, enterovirusia sekä niiden patogeneesiä tyypin 1 diabeteksessä. Patogeneesiluvussa on esitetty erilaisia teorioita taudin synnystä ja sen etenemisestä elimistössä. Lisäksi raportissa kerrotaan hyvän Power Point –esityksen ominaisuuksista, toiminnallisesta opinnäytetyöstä menetelmänä sekä opinnäytetyöprosessista.

Opinnäytetyön tuotoksena tehtiin enteroviruksista ja tyypin 1 diabeteksestä kertova Power Point –esitys DIPP-tutkimuksen työntekijöille. Diaesityksessä käsiteltiin enteroviruksen yhteyttä tyypin 1 diabetekseen sekä pohdittiin enteroviruksen roolia taudin patogeneesissa.

Asiasanat: tyypin 1 diabetes, enterovirus, autovasta-aine, patogeneesi, power point

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science
10SBIO

HENTTINEN, SALLAMARI:
Enterovirus and type 1 diabetes
Power Point presentation for DIPP -research group

Bachelor's thesis 57 pages
October 2013

DIPP stands for Diabetes Prediction and Prevention. It is a branch of science that examines children who have increased genetic predisposition for type 1 diabetes. DIPP is the most long-term prospective follow-up study in Finland and it examines different risk factors of the disease. The research data strongly suggest that type 1 diabetes occurs as a detrimental combination of genetic predisposition and environmental triggering factors.

This study was carried out with cooperation with DIPP -research group in Paediatric center of Tampere University Hospital. The purpose of the study was to deepen the DIPP research members' knowledge about enteroviruses and their relation to type 1 diabetes. The study included a theoretical report and a concise power point presentation. With the help of the report and the presentation the objective was to increase the significance of routine work in research-centred working environment.

This study was functional in nature and it consists of two parts: the report and the output. The report comprises information about DIPP research group, type 1 diabetes, autoantibodies of the disease, enteroviruses and their pathogenesis. In addition the report covers characteristic of a good power point presentation. The presentation is focuses on elaborated enteroviruses and their pathogenesis.

Key words: type 1 diabetes, enterovirus, autoantibody, pathogenesis, power point

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	6
2	TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT	8
3	DIPP-TUTKIMUS	9
4	TYYPIN 1 DIABETES	11
4.1	Altistavat geneettiset tekijät	11
4.2	Altistavat ympäristötekijät	12
4.2.1	Ravintotekijät	12
4.2.2	Lihavuus	15
4.2.3	D-vitamiini	15
4.2.4	Suoliston mikrobifloora	16
5	DIABETEKSEN AUTOVASTA-AINEET	17
5.1	Rakenne	17
5.2	Saarekesoluvasta-aineet	18
5.3	Glutamaattidekarboksylaasivasta-aineet.....	19
5.4	Saarekeantigeeni 2 vasta-aineet	19
5.5	Insuliiniautovasta-aineet	20
5.6	Sinkikuljetusproteiini 8 vasta-aineet.....	20
5.7	Vasta-aineiden määrittäminen.....	21
6	ENTEROVIRUKSET	23
6.1	Rakenne	23
6.2	Genomi.....	24
6.3	Lisääntymiskierto.....	25
6.4	Enterovirusinfektiot	28
7	TYYPIN 1 DIABETEKSEN PATOGENEESI.....	30
7.1	Hygienia- ja poliohypoteesi	30
7.2	T-solujen rooli.....	33
7.3	Eläinkoemallit.....	37
7.4	Tyypin 1 diabeteksen ehkäisy.....	40
8	HYVÄN POWER POINT- ESITYKSEN OMINAISUUKSIA	43
9	TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ	45
9.1	Opinnäytetyöprosessi.....	45
9.2	Opinnäytetyön tuotos	47
10	POHDINTA.....	49
	LÄHTEET.....	52

LYHENTEET JA TERMIT

DIPP	Diabetes Prediction and Prevention (Diabeteksen ennustus ja ehkäisy)
GAD	Glutamate Decarboxylase (Glutamaattidekarboksylaasiproteiini)
GP	Glykoproteiini
HLA	Human leukocyte antigen (Ihmisen leukosyyttiantigeeni)
IAA	Insulin Autoantibody (Insuliinivasta-aine)
IA-2	Islet antigen -2 (Saarekeantigeeni 2 vasta-aine)
ICA	Islet Cell Antibody (Saarekesoluvasta-aine)
IL	Interleukiini
IRES	Internal ribosomy entry site (ribosimin sitoutumiskohta)
MHC	Major histocompatibility complex (Solujen solupinnan glykoproteiinikompleksi)
NOD	Non-obese diabetic
NP	Nukleoproteiini
RIP-LCMV	Rat insulin promoter” controls expression of “lymphocytic choriomeningitis virus” protein
TGF	Transforming growth factor (Kasvutekijä)
TNF	Tumor necrosis factor (Tuumori nekroosi tekijä)
TRIGR	The Trial to Reduce IDDM in Genetically in Risk
UTR	Untranslated region (Ei-koodaava alue)
VNTR	Variable number of tandem repeats (Toistojakso)
ZnT8	Zink-transport 8 (Sinkin kuljetusproteiini 8)

1 JOHDANTO

Tyypin 1 diabetes on energiaa tuottavan ja elämälle välttämättömän sokeriaineenvaihdunnan häiriö. Diabetes ilmenee kohonneena veren glukoosipitoisuutena, joka johtuu insuliinihormonin puutteesta tai sen heikentyneestä vaikutuksesta. Tauti on yleistymässä ja pelkästään Suomessa tautiin sairastuneita on jo yli 40 000. Tyypin 1 diabeteksen sairastuvuus onkin Suomessa maailman korkein. (Saraheimo 2009, 9.) Vuonna 1994 alkanut DIPP-tutkimus on pitkäaikaisin tyypin 1 diabeteksen seurantatutkimus, jossa kartoitetaan sairauden eri riskitekijöitä. DIPP-tutkimuksen tavoitteena on ehkäistä ja ennustaa tyypin 1 diabeteksen puhkeamista. Taudin aiheuttajiksi epäillään geeniperimää ja erinäisiä ympäristötekijöitä. Yhdessä nämä tekijät voivat aiheuttaa taudin puhkeamisen. Yksi eniten tutkituista ympäristötekijöistä ovat enterovirukset. (Dipp-tutkimus 2012.)

Tämä opinnäytetyö tehdään yhteistyössä TAYS:n lastentautien tutkimuskeskuksen DIPP-tutkimusryhmän kanssa. Opinnäytetyön tarkoituksena on syventää DIPP-tutkimusryhmässä työskentelevien henkilöiden tietämystä aiheesta tekemällä laaja-alainen teoriatietoon pohjautuva raportti ja Power Point-esitys enteroviruksista ja niiden yhteydestä tyypin 1 diabetekseen. Opinnäytetyöni tavoitteena on lisätä työntekijöiden ammatillista tietoutta enteroviruksista ja sitä kautta lisätä rutiinityön merkityksellisyyttä tutkimuspainotteisessa työympäristössä. Aihe on tärkeä, sillä tyypin 1 diabetes on jo nyt allergioiden ja astman jälkeen lasten ja nuorten yleisin krooninen sairaus, eikä geneettinen tautiriski pysty yksin selittämään taudin nopeaa lisääntymistä. (Hyöty & Virtanen 2004.)

Raportti rakentuu viidestä eri asiakokonaisuudesta. Ensin kerrotaan yleistä tietoa tyypin 1 diabeteksestä ja siihen altistavista geneettisistä- ja ympäristötekijöistä. Tämän jälkeen käsitellään vasta-aineita, joiden avulla voidaan seurata sairauden kehittymistä ennen kliinisen diabeteksen puhkeamista. Opinnäytetyö on rajattu käsittelemään ympäristötekijöistä tarkemmin enteroviruksia. Enteroviruksia esiintyy ympäri maailmaa ja ne ovat yksi yleisempiä ihmisiä infektoivia viruksia. Yleisimpiä tauteja, joita enterovirukset aiheuttavat ovat flunssa ja enterorokko. Sitä, miksi enterovirukset aiheuttavat tyypin 1 diabetesta ei tarkalleen tiedetä. Opinnäytetyön viimeisessä osiossa on esitetty erilaisia tutkimustietoon pohjautuvia teorioita, miten ja miksi

enterovirusinfektiot altistavat tyypin 1 diabetekselle. Teoriaosuuden lopussa tarkastellaan millaisia ominaisuuksia esiintyy hyvässä Power Point esityksessä. Power Point-esityksen tavoitteena on, että DIPP-tutkimusryhmän jäsenet hyötyvät esityksestä. Nähty informaatio säilyy mielessä pidemmän aikaan, kuin ainoastaan kuultu informaatio. Lisäksi opinnäytetyön lopussa käsitellään toiminnallista opinnäytetyötä menetelmänä ja kerrotaan opinnäytetyöprosessista.

2 TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT

Opinnäytetyön tarkoituksena on syventää DIPP-tutkimusryhmässä työskentelevien laboratoriohoitajien ja tutkimushoitajien tietämystä aiheesta tekemällä laaja-alainen teoriatietoon pohjautuva raportti enteroviruksista ja niiden yhteydestä tyypin 1 diabetekseen. Työni toisena tarkoituksena on tuottaa DIPP- tutkimuksen työntekijöille Power Point-esitys, jossa on koottuna pääkohdat enteroviruksista ja siitä kuinka ne vaikuttavat tyypin 1 diabeteksen kehittymiseen. Diaesitystä työntekijät voivat käyttää myöhemmin osana esimerkiksi uuden työntekijän perehdyttämisessä.

Opinnäytetyöni tavoitteena on lisätä työntekijöiden ammatillista tietoutta enteroviruksista ja sitä kautta lisätä rutiinityön merkityksellisyyttä tutkimuspainotteisessa työympäristössä. Monet suomalaistutkimukset tyypin 1 diabeteksestä pohjautuvat DIPP-tutkimuksessa kerättyihin lasten näytteisiin. Oma tavoitteeni on laajentaa tietämystä enteroviruksista sekä kehittää kriittistä ajattelua ja ammatillista osaamista.

Opinnäytetyön tehtävinä on selvittää:

1. Miten tyypin 1 diabeteksen kehittymistä pystytään seuraamaan?
2. Millä eri mekanismeilla enterovirukset vaikuttavat tyypin 1 diabeteksen syntyyn?
3. Millaisia ominaisuuksia esiintyy hyvässä Power Point esityksessä?

3 DIPP-TUTKIMUS

DIPP eli Diabetes Prediction and Prevention on tyypin 1 diabetesta ennustava ja ehkäisevä tutkimusprojekti, joka on ollut toiminnassa jo vuodesta 1994 lähtien. Tampereen DIPP-tutkimusprojekti kuuluu TAYS:n lastentautien tutkimuskeskukseen. DIPP-tutkimus on toiminnassa Tampereen, Turun ja Oulun yliopistollisissa sairaaloissa. Tutkimuksessa etsitään vastasyntyneiden verestä tyypin 1 diabetekselle altistavia perintötekijöitä. Riskigeenin seulomiseen vaaditaan vanhemmilta kirjallinen suostumus. (DIPP-tutkimus 2013.)

Tyypin 1 diabeteksen riskigeenin seulonta tapahtuu vastasyntyneen napaverestä. Synnytyksen yhteydessä jokaisen vauvan napanuorasta otetaan yksi putki EDTA-verta, mutta vain suostuneiden perheiden osalta tutkitaan tyypin 1 diabetekselle altistavia riskigeenejä. Perheille, joiden lapsilla on seulonnassa todettu kohonnut geneettinen riski sairastua tyypin 1 diabetekseen, tarjotaan mahdollisuutta osallistua seurantatutkimukseen. Tutkimus on täysin vapaaehtoinen ja se voidaan keskeyttää perheen pyynnöstä missä tahansa vaiheessa. (DIPP-tutkimuksen kulku 2012.) Valtakunnallisesti mukana on noin 8000 lasta. Tähän mennessä autovasta-aineita on kehittynyt yli 2800 lapselle ja yli 600 on sairastunut tyypin 1 diabetekseen. (Kesäkirje 2013.)

Ensimmäisen kerran perhe pyydetään vastaanotolle lapsen ollessa kolmen kuukauden ikäinen. Vastaanotolla käydään läpi tutkimuksen kulku, keskustellaan mahdollisista sairasteluista, lääkityksestä ja ruokavalioista. Näillä kaikilla edellä mainituilla ympäristötekijöillä uskotaan olevan vaikutusta tyypin 1 diabeteksen syntymiseen. Lisäksi lapsi punnitaan ja mitataan jokaisella vastaanottokäynnillä. DIPP-seurantatutkimuksessa lasta seurataan aluksi kolmen kuukauden välein 2-vuotiaaksi asti ja sen jälkeen puolen vuoden tai vuoden välein riippuen lapsen geneettisestä riskistä sairastua tyypin 1 diabetekseen. Myöhemmissäkin vaiheissa seuranta tapahtuu verinäytteiden avulla, joista yhä tutkitaan diabeteksen syntyyn vaikuttavia tekijöitä. (Dipp-tutkimuksen kulku 2012.)

Lapsesta saatetaan ottaa verinäytteitä jopa kolmen kuukauden välein monen vuoden ajan ja lisäksi hänelle tehdään glukoosirasituskokeita. Jottei lapsen tarvitse pelätä

verinäytteenotosta aiheutuvaa kipua, laitetaan hänelle vastaanotolla käsivarteen puuduterasvaa, joka tekee kyynärtaipeen ihon tunnottomaksi verinäytteenoton ajaksi. Yksi merkittävimmistä diabeteksen puhkeamiseen vaikuttavista tekijöistä ovat autovasta-aineet. Jos vasta-aineita löytyy verestä, tehostetaan tutkittavan henkilön seurantakäyntien määrää. Tutkimuskäynnit ovat kolmen kuukauden välein lapsen iästä riippumatta ja lisäksi suositellaan, että lapselle tehtäisiin sokerirasituskoe 6-12 kuukauden kuluttua autovasta-aineiden ilmaantumisesta. Glukoosirasituskokeella saadaan lisätietoa haiman insuliinin tuotannosta ja siitä, onko lapsella viitteitä sokeriaineenvaihdunnalliseen häiriöön. Näiden tulosten avulla arvioidaan haiman kykyä tuottaa insuliinia verenkiertoon. (Dipp-tutkimuksen kulku 2012.)

Tutkimuksessa mukana olevaa lasta seurataan viiteentoista ikävuoteen asti, mikäli hänelle ei ole kehittynyt autovasta-aineita. Mikäli lapsella on kohonneita vasta-ainepitoisuuksia, hänelle tarjotaan taudin seuranta mahdollisuutta aina kahdeksantoista ikävuoteen asti. Jos taas glukoosirasituskokeissa todetaan, että glukoosipitoisuus on rasituksesta kahden tunnin jälkeen koholla, ohjataan lapsi tutkimushoitajan kautta lastentautien poliklinikalle hoidettavaksi. Diabeteksen puhkeamisen jälkeen lapsi ei enää ole mukana DIPP-tutkimuksessa. (Nyblom 2013.)

4 TYYPIN 1 DIABETES

Diabeteksen määritelmän mukaan henkilöllä on diabetes, mikäli verensokerin eli veriplasman glukoosipitoisuus on yön paaston jälkeen 7,0 mmol/l tai sitä korkeampi. Normaalin verensokerin ylärajana pidetään 6,0 mmol/l. (Mustajoki 2012.) Sairauden latinankielinen nimi on *diabetes mellitus*, joka tarkoittaa makean nesteen kulkeutumista elimistön läpi. Sanonta viittaa taudin tunnetuimpiin oireisiin, jotka ovat juomisen lisääntynyt tarve sekä sokerin erittyminen virtsaan. Diabeteksen yleisimmät muodot ovat tyypin 1 ja tyypin 2 diabetes. Aikaisemmin diabeteksen eri muotoja on kutsuttu erheellisesti nuoruusiän ja vanhuusiän diabetekseksi. Nykyään tiedetään, että tyypin 1 diabetes voi puhjeta myös aikuisiällä. Yleensä tyypin 1 diabetekseen sairastutaan alle 40-vuotiaana, mutta siihen voi sairastua myös vanhuudessakin. (Saraheimo 2011.) Tyypin 1 diabetekseen sairastuneita on Suomessa jo yli 40 000 ja sairaus onkin Suomessa yleisempi kuin missään muualla maailmassa. (Diabetesliitto.) 1950-luvulta nykypäivään mennessä tyypin 1 diabeteksen ilmaantuminen on viisinkertaistunut, eikä taudin geneettinen tausta yksin pysty selittämään taudin räjähdysmäistä lisääntymistä. Taudin puhkeamisen syyksi epäillään geneettistä tautiperimää yhdessä erinäisten ympäristötekijöiden kanssa. (Liuha 2007.)

4.1 Altistavat geneettiset tekijät

Tyypin 1 diabeteksen riskigenejä on tutkittu jo 1970-luvulta lähtien. Alttius sairastua tyypin 1 diabetekseen määräytyy perinnöllisesti, mutta taudin puhkeamiseen tarvitaan geneettisen alttiuden lisäksi useita ympäristötekijöitä. (Veijola 2004.) Useiden eri geenilokusten alleelien on osoitettu vaikuttavan joko taudille altistavasti tai siltä suojaavasti. Jos henkilö perii vanhemmiltaan sekä suojaavan että altistavan geenin, suojaava geeni on yleensä vallitsevampi. (Ilonen 2004.) Jo 1970-luvulla tutkijat löysivät diabetekselle altistavia riskigenejä 6. kromosomin lyhyestä haarasta. Nämä geenit koodaavat ihmisen leukosyyttiantigenejä eli niin kutsuttuja HLA-geenejä (human leukocyte antigen). Nämä geenit selittävät yli puolet tyypin 1 diabeteksen perinnöllisyydestä. (Manneri 2011.) Tutkimusten perusteella HLA-DQA1- ja HLA-DQB1-geenien koodaamien alfa- ja beetaketjujen muodostamat HLA-DQ-molekyylit ovat osoittautuneet olevan tärkeimpiä tautiriskin määrääjiä. HLA-DQB1-, HLA-DQA1-

ja HLA-DR-geenilokukset ovat kytkeytyneitä toisiinsa ja periytyvät yhtenäisinä kokonaisuuksina, eli niin kutsuttuina haplotyyppinä. (Noble & Erlich 2012.) Yksilön diabetesalttiuteen vaikuttavat molemmilta vanhemmilta perityt geenit. Niiden yhteisvaikutus riippuu suojaavien ja altistavien tekijöiden vaikutuksesta eli yksikin suojaava haplotyyppi riittää estämään sairauden, vaikka lapsi olisi perinyt myös altistavan haplotyyppin. Toisaalta lapsen sairastuvuus on suurempi, mikäli hän on perinyt kaksi erilaista sairaudelle altistavaa haplotyyppiä. HLA-alueen riskigeenien määritystä käyttäen voidaan lapsen sairastumisriski arvioida jonnekin 0,03 %:n ja 10 %:n välille. (Ilonen 2004.)

Lisäksi kromosomissa 11 tiedetään olevan tyyppin 1 diabetekselle altistavia niin kutsuttuja vaihtelevia insuliinigeenejä. Tämän geenialueen vaikutus diabetesriskiin on kuitenkin huomattavasti pienempi kuin HLA-geenien. Tutkimuksissa on osoitettu, että promoottorialueella sijaitsevan VNTR-alueen (variable number of tandem repeats) pituus kytkeytyy diabetesriskiin siten, että lyhyt toistoalleeli, etenkin homotsygoottisena, liittyy kohonneeseen diabetesriskiin. Insuliinigeenialueen tyyppitystä vaikeuttaa kuitenkin se, että genotyyppi esiintyy varsin yleisenä suomalaisessa taustaväestössä. (Reijonen, Ilonen & Knip 1994; Ilonen 2004; Veijola 2004)

4.2 Altistavat ympäristötekijät

Ympäristötekijöitä on tutkittu intensiivisesti viime aikoina, sillä tyyppin 1 diabetes on yleistynyt etenkin alle 5-vuotiailla lapsilla. Tämä viittaisi siihen, että varhaislapsuuden ja jopa jo äidin raskauden- ja imetyksenaikainen ravinto ovat merkityksellisiä diabeteksen puhkeamisen kannalta. Tutkimuksissa on saatu viitteitä siitä, että pitkä imetys ja D-vitamiini suojaisivat lasta, kun taas varhain aloitettu lehmänmaidon antaminen sekä ravinnon natriitit lisäisivät riskiä sairastua tyyppin 1 diabetekseen. (Virtanen & Knip 2003; Liuha 2007; Patterson ym. 2009.)

4.2.1 Ravintotekijät

Eläinkokeiden perusteella on myös saatu viitteitä siitä, että lehmänmaito saattaa lisätä tyyppin 1 diabetesriskiä. Lehmänmaitoproteiinit ovat ensimmäisiä vieraita

valkuaisaineita, joita vastasyntynyt saa suolistoonsa. Tämä altistus on voimakas immunostimulaatio ja aiheuttaa paitsi spesifisen immuunivasteen muodostuksen kyseisiä antigeeneja kohtaan myös epäspesifistä immunologista aktivaatiota. Tutkimukset antavat viitteitä siitä, että lehmänmaitoproteiineille altistuminen suurentaa riskiä sairastua diabetekseen epäspesifisin mekanismein, kuten esimerkiksi aktivoimalla vastasyntyneen suoliston immuunijärjestelmää. (Vaarala ym. 2012.) Vuonna 2002 aloitettiin kansainvälinen TRIGR-tutkimus (The Trial to Reduce IDDM in the genetically at Risk), jonka tarkoituksena oli selvittää voidaanko tyypin 1 diabetesta ehkäistä korvaamalla tämänhetkinen lehmänmaitopohjainen äidinmaidonkorvike hydrolysoidulla, pilkottuja proteiineja sisältävällä korvikkeella. TRIGR on kansainvälinen tutkimus, josta saadaan tuloksia vasta parin vuoden kuluessa.

Suomessa, Ruotsissa ja Virossa toteuttiin samantapainen tutkimus, jossa seurattiin lehmänmaidonproteiinin vaikutusta autovasta-aineiden ilmaantumiseen. Tutkimukseen osallistui 242 vastasyntyntä, joilla on perimässään HLA-DQB1 riskialleeli ja joiden suvussa esiintyy tyypin 1 diabetesta. 120 vastasyntyneistä sai tavallista äidinmaidonkorviketta, kun taas 122 vastasyntyntä sai hydrolysoitua äidinmaidonkorviketta. Korvikkeiden antaminen kesti kuuteen kuukauteen asti tai jos äiti päätti imettää täysijaksoisesti, korviketta annettiin kahden lisäkuukauden ajan eli kahdeksaan kuukauteen asti. Vastasyntyneen ruokavaliassa tuotteet, jotka sisälsivät lehmänmaitoa olivat kiellettyjä. Tulokset indikoivat, että tyypin 1 diabeteksessa ilmaantuvia autovasta-aineita voidaan ehkäistä tai viivästyttää antamalla hydrolysoitua äidinmaidonkorviketta tavallisen lehmänmaitokorvikkeen sijasta. (Åkerblom ym. 2005; Knip ym. 2010.)

Erinäisissä tutkimuksissa on myös todettu, että pidempi imetysaika suojaa lasta tyypin 1 diabetekselta. Äidinmaidossa olevien vasta-aineiden on todistettu suojaavan lasta enterovirusinfektioilta, jotka puolestaan altistavat tyypin 1 diabetekselle. Äidinmaito sisältää useita yhdisteitä, joilla on mikrobeja tuhoava vaikutus. (Liuha 2007.) Suomalais tutkimukseen osallistui 150 vastasyntyntä, joita seurattiin järjestelmällisesti enterovirusinfektioiden vuoksi. Tutkijat pitivät kirjaa myös äitien imetysajoista. Äidinmaidosta ja verikokeista tutkittiin kolmen kuukauden välein enterovirusten vasta-aineita ja RNA:ta. Tutkimuksen tuloksena todettiin, että äitien, jotka imettivät lapsiaan kauemmin kuin kaksi viikkoa, lapsilla oli vähemmän enterovirusinfektioita ennen

ensimmäistä ikävuotta, verrattuna niihin lapsiin, joita oli imetetty alle kaksi viikkoa. (Sadeharju ym. 2007.)

Maito saattaa olla myös yksi riskitekijöistä imeväisiän jälkeen. Suomalaisessa tutkimuksessa 1990-luvulla seurattiin diabeetikkojen terveitä sisaruksia indeksisisaruksen sairastumisesta lähtien. Maitoa yli puolilitraa päivässä juoneiden lasten riski sairastua tyypin 1 diabetekseen 10 vuoden seurannan aikana oli kolminkertainen verrattuna vähemmän maitoa juoneisiin lapsiin. Otettaessa huomioon lapsen geneettiset riskitekijät tyypin 1 diabetekselle, riski sairastua olikin jo viisinkertainen (Virtanen ym. 2000.) Maito on lasten ruokavaliossa keskeinen kalsiumin, proteiinin ja B-vitamiinien lähde. Tällä hetkellä maitovalmisteiden välttämisen haitat lapsen kehityksen kannalta olisivat kuitenkin todennäköisesti hyötyjä suuremmat. Tästä johtuen tutkimuksista täytyy saada varmoja tuloksia maidon riskitekijöistä ja niiden yhteydestä tyypin 1 diabetekseen, ennenkuin maidon juomista tulisi rajoittaa. (Uusitalo, Niinistö & Virtanen 2013.)

Useissa kohorttitutkimuksista on saatu viitteitä siitä, että viljavalmisteiden ja kasvien käytön varhainen aloittaminen lisää riskiä sairastua tyypin 1 diabetekseen. Amerikkalaisen DAISY-tutkimuksen mukaan lapsen tulisi saada gluteenipitoista ruokaa ensimmäisen kerran vasta 4-6 kuukauden ikäisenä. Tällöin esidiabeteksen riski on pienimmillään. (Norris ym. 2003.) Myös DIPP-tutkimuksessa on saatu viitteitä, että perunan, porkkanan tai muiden juuresten käytön aloittaminen ennen 4 kuukauden ikää, suurentaa esidiabeteksen riskiä (Virtanen ym. 2011.)

Ruoan mikrobitoksiinit ovat yksi uusimmista ja kiinnostavimmista tutkimusalueista tyypin 1 diabeteksen riskitekijöitä etsittäessä. Soluviljelmätutkimuksissa on havaittu, että juureksista ja maidosta eristetty mikrobitoksiini, joka muistuttaa rakenteeltaan antibiootteja, tuhoaa haiman beetasoluja. Ongelmana kuitenkin on, että toksiinipitoisuudet voivat vaihdella samassakin elintarvikkeessa suuresti johtuen tuotteen kasvatus- ja säilytysolosuhteista. Lisäksi toksiinipitoisuudet ovat yleensä niin pieniä, että mittaaminen on varsin haasteellista. (Virtanen ym. 2008.)

4.2.2 Lihavuus

Lapsen lisääntynyt painonnousu imeväisiässä ja nopea pituuskasvu lapsuuden aikana ovat olleet systemaattisesti yhteydessä kohonneeseen tyypin 1 diabeteksen sairastumisriskiin. Lisäksi myöhemmällä iällä ylipaino ja lihavuus lisäävät tätä riskiä sairastua entisestään. (Knip, Virtanen & Åkerblom 2010.) Lapsen kasvun ja ylipainon mahdollinen yhteys tyypin 1 diabeteksen kehittymiseen saattaa johtua osaksi perinnöllistä tekijöistä. Perinnöllisesti määräytyvä nopea pituuskasvu voi lisätä insuliinin tarvetta tai vaihtoehtoisesti lapsella saattaa olla perinnöllinen taipumus veren korkeisiin insuliinipitoisuuksiin, joka taas voi johtaa kiihtyneeseen kasvuun. Myös lapsen ylipaino saattaa aiheuttaa veren insuliinipitoisuuden kohoamisen. Beetasolut ovat yllä mainituista tekijöistä johtuen alttiimpia sytokiinien toksisille vaikutuksille, jolloin lisääntynyt insuliinin erityys voi stimuloida antigeenien erittymistä beetasoluissa. (Terveyden ja hyvinvoinninlaitos 2013.)

4.2.3 D-vitamiini

Eläinmalleissa on pystytty osoittamaan D-vitamiinin positiivinen merkitys tyypin 1 diabeteksen synnyn ehkäisyssä. D-vitamiinin on osoitettu estävän haiman insuliinia tuottavien solujen vaurioita. Kyseisissä tutkimuksissa käytetyn D-vitamiinilisän annosmäärä on kuitenkin ollut hyvin suuri. Suomalaisten lasten suuri tyypin 1 diabeteksen riski ei kokonaan selity D-vitamiinin puutoksella, koska harvat lapset ovat kärsineet D-vitamiinin puutuksesta viime vuosikymmeninä. (Terveyden- ja hyvinvoinninlaitos 2013.) Myös äidin raskaudenaikaisen D-vitamiinin saannin yhteyttä tyypin 1 diabeteksen kehittymiseen lapsella on tutkittu useissa erilaisissa tutkimuksissa. Miettisen ym. suorittamassa suomalaistutkimuksessa mitattiin äidin kolmen ensimmäisen raskauskuukauden aikaista D-vitamiinitasoa. Tutkimukseen osallistuvat äidit jaettiin kahteen eri ryhmään. Toisten äitien lasten tuli sairastaa tyypin 1 diabetesta (tapausäidit) ja toisten äitien lasten tuli olla terveitä (kontrolliäidit). Mitatuista seerumin 25(OH)D- tasoista kävi ilmi, että tapausäideillä D-vitamiinipitoisuus oli 43.9 nmol/l ja kontrolliäideillä vastaava tulos oli 43.7 nmol/l. Eli tutkimustuloksissa ei ollut huomattavaa eroa. Joissain tutkimuksissa on kuitenkin saatu positiivisia tuloksia, mutta varmaa näyttöä D-vitamiinin vaikutuksesta tyypin 1 diabetekseen ei vielä ole. (Miettinen ym. 2012; Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2013.) Useat tutkimukset

kuitenkin korostavat D-vitamiinivalmisteiden merkitystä yhtenä tyypin 1 diabeteksen ehkäisevänä tekijänä (Terveystieteiden tutkimuskeskus ja Hyvinvoinninlaitos 2013.) D-vitamiinin saantisuositus on alle 60-vuotiaille 7,5µg/vrk ja yli 60-vuotiaille määrä tulisi olla 20µg/vrk. Nykyiset suositukset perustuvat pohjoismaisiin vuonna 2004 julkistettuihin ravitsemussuosituksiin. Asiantuntijoiden mukaan päivittäinen D-vitamiiniannos saa olla suositusta huomattavasti suurempi, muttei kuitenkaan yli 250 mikrogrammaa. (Lähde 2013.)

4.2.4 Suoliston mikrobifloora

Viime vuosina tyypin 1 diabeteksen lisäksi myös keliakia, ruoka-allergiat ja astma ovat lisääntyneet huomattavasti. Kaikilla edellä mainituilla taudeilla on yhteistä häiriintynyt tai heikentynyt immuunipuolustuksen säätelykyky. (Branum & Lucas 2009; Triolo ym. 2011.) Useissa tutkimuksissa on varmistunut, että lapset joilla on tyypin 1 diabetes, heidän ohutsuolensa niin sanotusti vuotaa. Tämä tarkoittaa, että suoliston mikrobit ja ravintoaineet läpäisevät suolen seinämän läpi tavallista helpommin. Ohutsuolessa epiteelisolut muodostavat suoleen pintakerroksen, jonka tarkoitus on estää ravinnon ja mikrobien pääsy suolen sisältä suolen seinämään ja sieltä muihin kudoksiin. Mikäli materiaalia pääsee suolen läpi liian paljon muualle elimistöön, valkosolujen ja koko elimistön sietokyky kuormittuu liikaa, joka aiheuttaa voimakkaan tulehdusreaktion ravinnon proteiineja kohtaan. Vuotava suoli saattaa johtua suolen oman mikrobiflooran häiriöstä. Epäillään, että jokin virhe floorassa saattaa aiheuttaa epiteelikerroksen rakenteen rikkoutumisen. Tämä aiheuttaa ravintoaineiden vuotamista solujen välistä. Eläinkokeissa on osoitettu, että ravinnon valkuaisaineiden ärsytys varhaislapsuudessa lisää suolen tulehdusta ja sitä kautta lisää haiman saarekkeiden tuhoutumista. Outi Varalan tutkimus esittää, että liian varhainen altistaminen maidon proteiinille sataisi johtaa ohutsuolen limakalvon tulehdukseen, häiriintyneeseen immuunivasteeseen ja lisääntyneeseen suoliston läpäisevyyteen. Tätä hypoteesia tutkitaan parhaillaan EDIA-tutkimuksessa. (Manneri 2008.)

5 DIABETEKSEN AUTOVASTA-AINEET

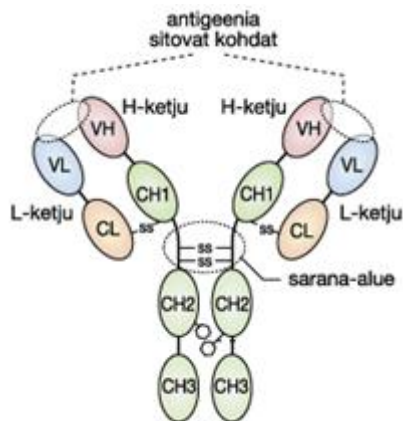
Tyypin 1 diabetes luokitellaan autoimmuunisairaudeksi, koska tauti on seurausta haiman insuliinia tuottavien beeta-solujen tuhoutumisesta. Viimeaikaisten tutkimusten mukaan elimistön omat autoreaktiiviset T-lymfosyytit hyökkäävät kuitenkin vielä toistaiseksi tuntemattomasta syystä beetasolujen kimppuun ja tuhoavat ne vähitellen. Määritelmän mukaan autoimmuunisairaus on tauti, jossa elimistön immuunijärjestelmä tunnistaa virheellisesti oman kudoksen vieraaksi ja käynnistää siihen kohdistuvan immuunivasteen. (Daneman 2006.) Jo ennen taudin puhkeamista autoimmuunitulehdus voidaan todeta verenkiertoon ilmaantuvista diabetekseen liittyvistä autovasta-aineista. Autovasta-aineet kohdistuvat beetasolujen omia proteiineja, kuten insuliinia, glutamaatti-dekarboksylaasia (GAD) ja IA-2 saarekeantigeenia (islet antigen 2) vastaan. Autovasta-aineilla ei ole aktiivista osaa beeta-solujen vaurioitumisessa. Verestä mitattavien vasta-aineiden ajatellaan ennustavan diabeteksen kehittymistä heijastamalla haiman saarekkeissa tapahtuvaa beetasoluvauriota. Jopa 3,9 %:lla suomalaisista ala-asteikäisistä lapsista esiintyy vähintään yksi autovasta-aine, joka liittyy tyypin 1 diabetekseen. Arvioilta noin 0,7 % sairastuu diabetekseen ennen 15 vuoden ikää. Kaikille autovasta-ainepositiivisille henkilöille ei kuitenkaan välttämättä kehity kliinistä tautia. Tällä hetkellä on tiedossa viisi autovasta-ainetyyppiä, jotka ennustavat tyypin 1 diabeteksen kehittymistä. (Knip 2004.)

5.1 Rakenne

Kaikkien luokkien vasta-aineilla on sama yleisrakenne. Vasta-ainemolekyylillä on Y-kirjaimen mallinen glykoproteiini ja se rakentuu neljästä polypeptidiketjusta. Näistä ketjuista kaksi on identtistä kevytketjuja (L-ketjuja) ja toiset kaksi ovat identtisiä raskasketjuja (H-ketjuja). Raskasketjut ovat kiinni toisissaan disulfididisidoksin samoin kuin kevytketjut raskasketjuissa. Vasta-ainemolekyylin polypeptidi muodostaa primaari-, sekundaari- ja tertiaarirakenteita aivan samalla tavalla kuin proteiinit. Primaarirakenteessa aminohapot ovat kiinnittyneet toisiinsa peptididisidoksin. Sekundaarirakenteessa aminohappoketju laskostuu ja kiertyy itsensä ympäri. Proteiinien sekundaarirakenteissa esiintyy tiettyjä konformaatioita, joista yleisimmät ovat α -heliksi ja β -laskos. Tertiaarirakenteessa aminohappoketju kiertyy monimutkaisesti itsensä

ympäri muodostaen tertiaarirakenteen. Tertiaarinen rakenne muodostuu heikkojen vuorovaikutusten, kuten vetysidosten avulla. (Jokiranta & Seppälä 2011, 102-106.)

Sekä kevyt- että raskasketjut muodostuvat soikeista rakenteellisista perusyksiköistä, niin kutsutuista domeeneista. Raskasketjussa on tyypillisesti neljä domeenia. Ketjun ensimmäistä domeenia kutsutaan variaabelidomeeniksi (VH), sillä siinä esiintyy paljon vaihtelua ja domeeni osallistuu antigeenia sitovan kohdan muodostukseen. Kolme muuta domeenia ovat vasta-aineessa samanlaisia ja niitä kutsutaan yhteisesti vakioalueeksi eli C-alueeksi (constant). Yksittäisistä domeeneista käytetään lyhennettä CH1 (raskasketjun konstantti domeeni), CH2 ja CH3. Kevyketjussa on vain kaksi domeenia, joista toisessa esiintyy paljon vaihtelua. Näistä toista kutsutaan VL-domeeniksi ja toista, jossa ei esiinny vaihtelua, kutsutaan CL-domeeniksi. Raskasketjumolekyyliden CH1- ja CH2-domeenien välissä on niin kutsuttu sarana-alue. Sarana-alue on taipuisa laskostuneen rakenteen puuttumisen takia. Taipuisuus mahdollistaa kahden antigeenimolekyylin sitoutumisen yhteen vasta-aineeseen samanaikaisesti. Vasta-aineen rakenne on esitetty kuvassa 1. (Jokiranta & Seppälä 2011, 101-109)



KUVA 1. Vasta-aineen rakenne (Jokiranta & Seppälä 2011, 104, muokattu)

5.2 Saarekesoluvasta-aineet

Saarekesoluvasta-aineet eli ICA (islet cell antibodies) kuvattiin ensimmäistä kertaa yli 30 vuotta sitten potilailta, jotka sairastivat polyendokrinopatiaa. Tuoreista diabeetikoista noin 90 %:lla todetaan saarekesoluvasta-aineita. Niiden pitoisuus pienenee yleensä

nopeasti taudin ilmaantumisen jälkeen. Saarekesoluvasta-aineet ovat ryhmä heterogeenisiä vasta-aineita, jotka suuntautuvat saarekesolujen sytoplasman komponentteja vastaan. Ne edustavat useita autovasta-ainelajeja eli saarekesoluvasta-ainetasot heijastavat myös IA-2- että GAD-vasta-ainetasoja. Mukana on myös vasta-aineita yhdelle tai useammalle tuntemattomalle valkuaisaineelle, koska noin puolet ICA-positiivisista lapsista ei ikinä kehittä IA-2- eikä GAD-vasta-aineita. (Hirvelä 2009.) Lapsen muuttuminen ICA-positiiviseksi, se ei kuitenkaan merkitse, että hän sairastui tyypin 1 diabetekseen. Lapsen sairastuminen on melkein yhtä epätodennäköistä kuin vasta-ainenegatiivisen lapsen sairastuminen. Lapset, jotka ovat ICA:n suhteen positiivisia, on yli yhdeksän mahdollisuutta kymmenestä pysyä terveenä seuraavien 10 vuoden aikana. Noin 7,5 % DIPP-seurannassa käyneistä lapsista kehitti viiteen ikävuoteen mennessä saarekesoluvasta-aineita. (Knip 2012.)

5.3 Glutamaattidekarboksylaasivasta-aineet

Lyhenne GAD tulee sanoista glutamaattidekarboksylaasiproteiini. Glutamaattidekarboksylaasiproteiini löydettiin ensimmäisen kerran jo 1982, mutta vasta kymmenen vuotta myöhemmin se tunnistettiin ja nimettiin GAD65:ksi. Se on aivojen tärkein estävä välittäjäaine. Kyseistä GAD-proteiinia esiintyy myös haiman soluissa, jossa se toimii solunsisäisenä proteiinina. GAD-proteiinin erittyminen verenkieroon on merkki alkaneesta solutuhosta, joka voi myöhemmin johtaa tyypin 1 diabetekseen. 90 %:lla sairastuneista diabeetikoista esiintyy GAD-vasta-aineita. (Knip 2012). Sairastumisriskin suhteen tutkimuksissa ei olla havaittu eroavaisuutta GAD-vasta-aineiden eri alatyypin välillä (Hirvelä 2009).

5.4 Saarekeantigeeni 2 vasta-aineet

Saarekeantigeeni 2 vasta-aine (Islet antigen 2, IA-2) -proteiinia esiintyy sekä keskushermostossa että haiman saarekesoluissa. Islet antigen kuuluu proteiinityrosiinifosfataasi nimiseen entsyymiperheeseen ja vasta-aine sitoutuu veressä tyrosiinifosfaattiin. Proteiini löydettiin autoantigeeninä ensimmäisen kerran yli 20 vuotta sitten. Kyseisen vasta-aineen molekyyli rakenne selvisi vuonna 1994. Samaan proteiiniperheeseen kuuluu myös islet antigen 2 β -proteiini. IA2-vasta-aineet ovat

yleisempiä kuin IA2 β -vasta-aineet. (Pandey, Sharma, Garg & Mondal 2011.) Tämän takia ensiksi mainitut vasta-aineet määritetään ensisijaisesti. IA-2 proteiini toimii vielä tuntemattomasta syystä autovasta-aineena tyypin 1 diabeteksen synnyssä. IA-2 sijaitsee Langerhansin solujen sisällä ja vapautuu ainoastaan soluvaurion yhteydessä. Lapsella, jolla IA-2 ja GAD vasta-aineet ovat koholla, on merkittävästi kohonnut riski sairastua tyypin 1 diabetekseen. Yleensä IA-2 vasta-aineet ilmaantuvat kuitenkin viimeisenä vereen ja siksi Dipp-seurannassa käynneistä lapsista vain 3,3 % kehitti IA-2 vasta-ainepositivisuutta. (Knip 2012.)

5.5 Insuliiniautovasta-aineet

Insuliiniautovasta-aineita (Insulin Autoantibodies, IAA) löydettiin jo yli 25 vuotta sitten vastasairastuneilta diabeetikoilta. Insuliiniautovasta-aineet kohoavat ensimmäisten tautiprosessin alkamisesta kertovien vasta-aineiden joukossa. Jopa 50–70 %:lla vastasairastuneista diabeetikoista esiintyy IAA-vasta-aineita. Esiintyvyys ja vasta-aineiden pitoisuudet ovat sitä suuremmat, mitä nuoremmasta sairastuneesta on kyse. Tutkimuksissa on ilmennyt, että erityisesti geneettisesti HLA-DR4- ja DQ8-haplotyyppiä olevilla sairastuneilla esiintyy useimmiten insuliiniautovasta-aineita. (Hirvelä 2009.)

Insuliinivasta-aineita ilmaantuu verenkiertoon kahdessa eri tapauksessa. Ensimmäisessä tapauksessa lapsen immuunijärjestelmässä on jokin häiriö, joka saa lapsen elimistön tuottamaan vasta-aineita omaa insuliinia kohtaan. Toinen hypoteesi perustuu ristireaktioon. Kun lapsi saa äidinmaidonkorviketta, hän altistuu lehmän maidon proteiineille, kuten insuliinille. Lehmän insuliini eroaa parin aminohapon verran ihmisen insuliinista, jolloin se saattaa aiheuttaa ristireaktion elimistössä ja insuliinivasta-aineiden ilmaantumisen. (Knip 2012.)

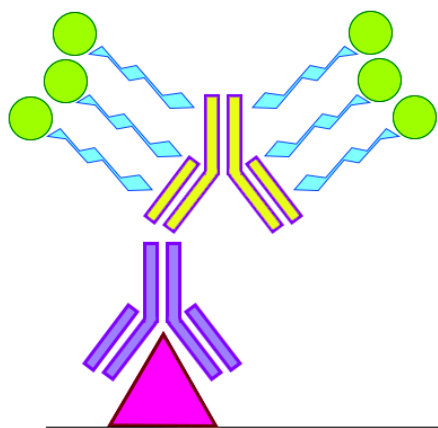
5.6 Sinkinkuljetusproteiini 8 vasta-aineet

Sinkin kuljetusproteiini 8 (ZnT8) on uusin diabeteksen autoantigeeniksi tunnistettu proteiini. Sinkin kuljetusproteiini sijaitsee haiman Langerhansin saarekesolujen kalvolla. Kuljetusproteiinin tehtävä on huolehtia sinkin kuljettamisesta, jotta insuliinin

varastoituminen olisi mahdollista. Vastasairastuneista diabeetikoista noin 63 %:lla todetaan ZnT8-vasta-aineita. Niiden esiintyminen on yleisempää vanhemmilla lapsilla kuin pikkulapsilla. (Wu 2013.) Suunnitteilla on ZnT8-vasta-aineiden määrittäminen myös Dipp-tutkimuslasten näytteistä.

5.7 Vasta-aineiden määrittäminen

Saarekesoluvasta-aineiden tunnistamiseen käytetään epäsuoraa immunofluoresenssimenetelmää. Immunofluoresenssimenetelmä perustuu antigeenin ja vasta-aineen väliseen reaktioon. Epäsuorassa menetelmässä käytetään seerumia ja vasta-aineita, jotka on leimattu fluoresoivalla värillä. Menetelmä on esitetty kuvassa 2. Fluorokromit ovat värejä, jotka absorboivat ultraviolettisäteitä ja emittoivat näkyvää valoa. Yleisimmät fluorokromit ovat fluoresiini ja rodamiini. Mittauksessa käytetään elinluovuttajan haimakudosta, josta on tehty ohut kudosleike. Kudosleikkeen päälle lisätään näytteseerumia, jolloin näytteessä olevat mahdolliset vasta-aineet kiinnittyvät haiman solujen antigeeneihin. Näytteeseen lisätään toinen vasta-aine, joka reagoi näytteseerumiin vasta-aineisiin kiinnittyen. (Knip 2009, 79; Knip 2012.)



KUVA 2. Epäsuora immunofluoresenssi menetelmä (Henttinen 2013.)

Vasta-aine-antigeenikompleksi pystytään havaitsemaan fluoresenssimikroskoopilla. Näyte fluoresoi vihreää väriä, jos näytteseerumista on löytynyt saarekesoluvasta-aineita. Jos laimentamaton näyte on positiivinen, näyte laimennetaan, jolloin voidaan tutkia mikä on suurin laimennus, joka pysyy positiivisena. Laimennussarjalla saadaan

semikvantitatiivinen tulos, joka luetaan kansainväliseen standardiseerumiin perustuvalla standardikäyrällä. Tulos ilmoitetaan Juvenile Diabetes Foundation (JDF) -yksiköissä. Määrittäskynnys on 2–5 JDF. Tasot, jotka ovat alle 20 JDF -yksikköä, tarkoittavat matalia tasoja. 20-79 JDF -yksikköä edustavat puolestaan kohtalaisia tasoja ja 80 JDF -yksikköä tai sitä korkeammat arvot ovat korkeita tasoja. (Knip 2012 & Knip 2009, 79.)

GAD-vasta-aineita määritetään radioimmunologisella menetelmällä. Kyseisessä mittauksessa tutkitaan kuinka tutkittavan potilaan seerumin immunoglobuliinit sitovat radioaktiivisella rikillä merkattuja GAD-proteiineja. Vasta-aineiden mittaus ei aiheuta enempää säteilyä kuin normaali taustasäteilykään. Tulos ilmoitetaan joko suhteellisissa yksiköissä laboratorion omaan standardiin perustuvan standardikäyrän avulla tai vaihtoehtoisesti WHO-yksiköissä. Kyseinen yksikkö perustuu WHO:n standardiseerumilla kalibroituun standardikäyrään. GAD-vasta-aineen positiivisuuden rajana pidetään 5,36 RU:ta (relative unit). Alle 20 RU:ta olevat pitoisuudet ovat matalia ja 20-79 RU:ta olevat kohtalaisia. 80 RU tai sitä korkeammat arvot ovat puolestaan korkeita. (Knip 2009, 79; Knip 2012.)

IA-2-vasta-aineiden mittausmenetelmänä käytetään samaa kuin GAD-vasta-aineiden määrittämisessä. Positiivisuuden raja-arvona pidetään 0,43 RU:ta. Alle 5 RU:ta olevat pitoisuudet ovat matalia, kun taas 5-39 RU:ta olevat tasot kohtalaisia. Yli 40 RU:ta olevat tasot ovat jo merkittävän korkeita. (Knip 2012.)

IAA:n määrittäminen perustuu myös radioimmunologiseen menetelmään. Tarkoituksena on mitata, kuinka voimakkaasti lapsen näytteseerumin vasta-aineet sitoutuvat radioaktiivisella jodilla leimattuun insuliiniin. Näytteen positiivisuuden rajana pidetään 3,48 RU:a (relative unit). Alle 5,0 RU:n tasot ovat matalia, 5,0-19,90 RU:n tasot ovat kohtalaisia ja yli 20,0 RU:n tasot tarkoittavat korkeita pitoisuuksia. (Knip 2012.)

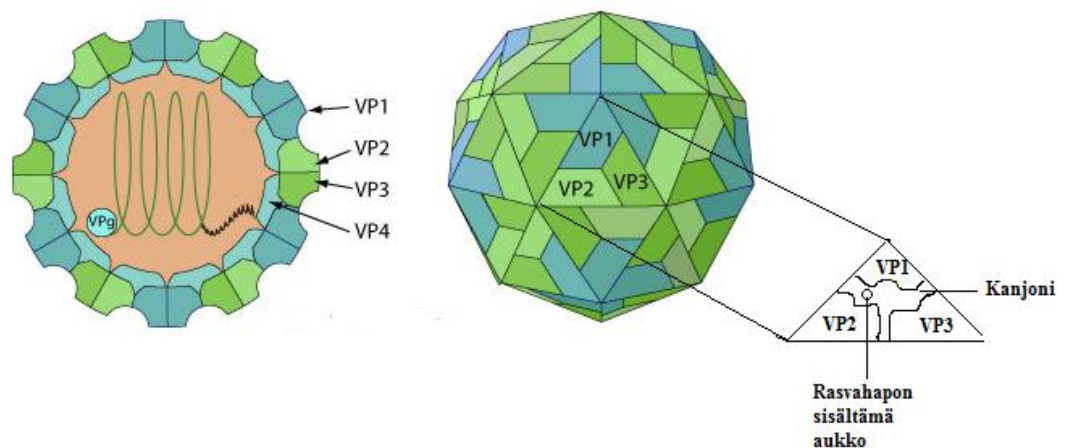
6 ENTEROVIRUKSET

Taksonomisen käytännön mukaan virukset on jaettu lajeihin, lajit sukuihin, suvut heimoihin ja eräät heimot on koottu lahkoihin (Bamford, Hyypiä & Saksela 2010). Enterovirukset kuuluvat *Picornavirales*-lahkoon ja *Pikornaviridae*-heimoon. Tällä hetkellä *Picornaviridae* -heimoon kuuluu 12 sukua: *Enterovirus*, *Kardiovirus*, *Aftovirus*, *Hepatovirus*, *Parechovirus*, *Erbovirus*, *Kobuvirus*, *Teschovirus*, *Sapelovirus*, *Senacavirus*, *Tremovirus* ja *Avihepatovirus*. Enterovirukset jaetaan kymmeneen eri lajiin: Ihmisen enterovirus A-D, ihmisen rinovirus A-C, apinan enterovirus A, sian enterovirus B ja naudan enterovirus. Lajit koostuvat useista eri serotyypeistä ja niitä tunnetaan yli 250 kappaletta. (Virus Taxonomy 2012.) Ihmisiä infektoivia enterovirusia tunnetaan yli 100 erilaista serotyyppiä. Enterovirusten luokittelu eri serotyyppeihin perustuu virusten eroihin pinta-antigeeneissä, genomissa ja fysikaalisissa ominaisuuksissa. Enteroviruksen genomi on herkkä mutaatioille sekä geneettisille rekombinaatioille. Nämä aiheuttavat geenisekvenssin sekä geneettisen informaation muuttumisen. Genomi sisältää niin kutsuttuja konservoituneita-alueita, jotka ovat sekvenssi-identiteetiltään hyvin samanlaisia eri serotyyppien välillä. Nykyään serotyyppien tyypittäminen tapahtuu sekvensoimalla VP1-kapsomeeri. Mikäli VP1-nukleotidisekvenssi on enemmän kuin 75 %:sti identtinen tai vaihtoehtoisesti amonohaposekvenssi on enemmän kuin 88 %:sti identtinen virukset luokitellaan samaksi serotyyppiksi. (Haapaniemi 2010; Knowles 2011.)

6.1 Rakenne

Enterovirukset ovat vaipattomia, positiivisäikeisiä RNA-virusia, joiden halkaisija on vain 28 nm. Viruksen genomi koostuu 7000-7500 emäksen mittaisesta yksijuosteisesta RNA-molekyylistä (single stranded RNA, ssRNA). Viruksen genomia ympäröi kapsidi, joka on ikosahedraalin muotoinen ja se rakentuu VP1, VP2, VP3 ja VP4 kapsomeerien muodostamista yksiköistä. Enterovirusilla näitä rakenneyksiköitä on 60 kappaletta ja jokainen yksikkö sisältää yhden kutakin kapsomeeria. Kapsomeerit VP1, VP2 ja VP3 muodostavat kuoren ulkopinnan ja VP4 sijaitsee kapsidin sisäpinnalla. (Rossmann, He & Kuhn 2002.)

Enteroviruksille on tyypillistä, että kapsidin ulkopinnan VP1-, VP2- ja VP3-proteiinit liittyvät kuorirakenteessa yhteen muodostaen polymeerin. Viiden polymeerin liittyessä yhteen ne muodostavat tähdenmallisen rakenteen. Kyseisen rakenteen ympärillä on syvä painauma eli kanjoni. Isäntäsolun pinnalla sijaitsevat enterovirusreseptorit, joiden avulla virus infektoi solun. Reseptorit sitoutuvat viruksessa kanjonin alueelle. Kanjonin pohjalla on hydrofobinen tasku eli aukko, joka sisältää rasvahapon. Rasvahapon lopullinen merkitys infektiossa ei ole vielä selvinnyt, mutta sen uskotaan vaikuttavan viruksen stabiilisuuteen. (Rossmann ym. 2002; Katpally & Smith 2007.) Kuvassa 3 on esitetty enteroviruksen kapsidin rakenne.

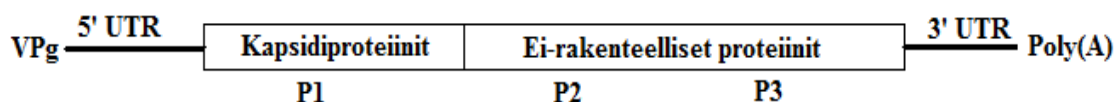


KUVA 3. Enteroviruksen kapsidin rakenne. (ViralZone, muokattu)

6.2 Genomi

Enterovirusgenomi rakentuu kolmesta eri alueesta P1, P2 ja P3. P1-alueella sijaitsee kapsidin VP1-, VP2-, VP3- ja VP4-kapsomeerien geenit, kun taas P2- ja P3-alueet koodaavat proteiineja, jotka osallistuvat replikaatioon ja proteiinin muokkaamiseen. Enteroviruksen genomissa on virioniproteiini (VPg), joka on kovalenttisin sidoksin kiinnittynyt genomien 5'-päähen. Enteroviruksilla kyseistä proteiinia koodaa yksi virusgeeni. Virioniproteiinin jälkeen genomien 5'-päässä on noin 750 nukleotidia pitkä konservatiivinen proteiineja koodaamaton alue. Tämä ei-koodaava alue, UTR (untranslated region) sisältää replikaation ja translaation kannalta tärkeitä sekvenssejä. Alue sisältää myös niin kutsutun IRES-kohdan (Internal ribosome entry site), joka toimii translaatiossa ribosomien sitoutumiskohtana. Genomien 3'-päässä on lyhyempi

UTR alue, joka on noin 76 nukleotidin mittainen. (Benard & Semler 2004.) Alue on tärkeä enteroviruksen replikaatiossa, sillä se tarjoaa 3D-polymeraasille sitoutumiskohdan replikaation aloituksessa. Replikaation aloitukseen osallistuu lisäksi 3'-pään polyadeniinihantä, joka on noin 50 nukleotidin mittainen. (Haapaniemi 2010; Rostela 2011). Genomin rakenne on esitetty kuvassa 4.



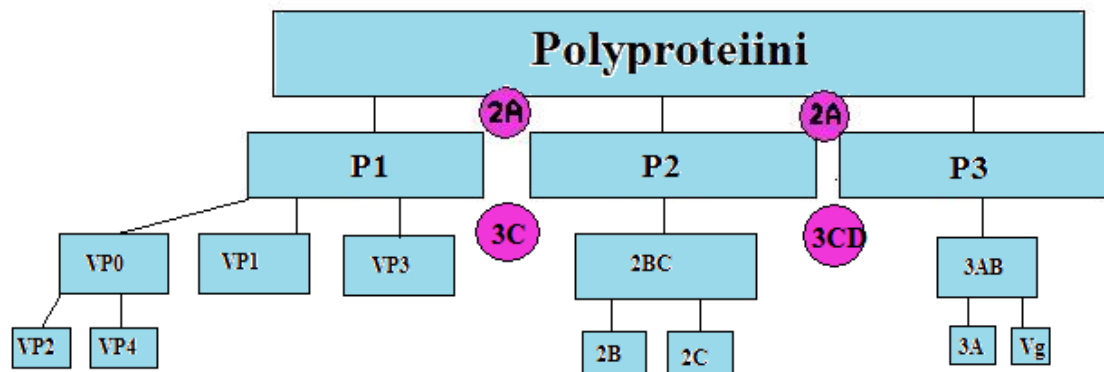
KUVA 4. Enteroviruksen genomin rakenne (Rostela 2011, muokattu.)

6.3 Lisääntymiskierto

Enterovirukset käyttävät isäntäsolun solukalvon molekyyliä reseptoreinaan. Reseptorit toimivat infektion välittäjinä. Solukalvoon kiinnittyminen aiheuttaa konformatiivisia eli rakenteellisia muutoksia enteroviruksessa. Kapsidin VP4-proteiini poistuu, jonka seurauksena viruksen RNA vapautuu isäntäsolun sytoplasmaan. Rinovirukset puolestaan kulkeutuvat solun sisään endosytoosilla. Endosytoosissa solukalvosta kuroutuu rakkula eli endosomi, jonka sisällä virus kulkeutuu solun sisään. Endosomista RNA vapautuu happamoitumisen avulla. (Racaniello 2007, 803-812.)

Enteroviruksen genomi voi toimia suoraan lähetti-RNA:na, sillä yksijuosteinen RNA-ketju on positiivinen. Viruksen genomi koodittaa yhtä suurta polyproteiinia. Polyproteiinilla tarkoitetaan proteiinia, joka entsymaattisesti pilkkotaan pienemmiksi proteiineiksi. Enteroviruksilla sen omat proteaasit 2A^{pro}, 3C^{pro} ja 3CD pilkkovat polyproteiinin. Polyproteiinin pilkkoutuminen tapahtuu kolmessa eri vaiheessa ja se on kuvattu kuvassa 5. Ensimmäisessä vaiheessa 2A-proteaasi katkaisee polyproteiinin kolmeen eri osaan, P1, P2 ja P3. Toisessa vaiheessa 3C-proteaasi sekä 3CD-proteaasi pilkkovat P1-, P2- ja P3-prekursioproteiinit edelleen pienemmiksi prekursoreiksi. Pilkkoutuminen jatkuu kolmanteen vaiheeseen asti, jonka jälkeen se pysähtyy. Proteolyttisen pilkkonnan seurauksena polyproteiinista muodostuu siis viraalisia proteiineja ja niiden prekursoreita. Valmiit proteiinit ovat tärkeitä viruksen elinkierrossa. Viruskapsidiin kuuluvat rakenteelliset proteiinit pilkkoutuvat P1-

proteiinista. (Bedard & Semler 2004; Racaniello 2007, 801-802.) Pilkkoutuneiden prekursori proteiinien tehtävät on kuvattu taulukossa 1.



KUVA 5. Enteroviraalisen polyproteiinin pilkkoutuminen. Ensimmäisessä vaiheessa 2A^{pro} katkaisee proteiinin kolmeen osaan (P1, P2 ja P3). Tämän jälkeen 3C^{pro}- ja 3CD-proteiinit pilkkovat P1, P2 ja P3 prekursorit proteiinit vielä pienimmiksi prekursoreiksi. (Racaniello 2007, 801, muokattu.)

TAULUKKO 1. Viraaliset proteiinit ja niiden tehtävät. (Bedard & Semler 2004, muokattu.)

Viraalinen proteiini	Viraalisten prekursoriproteiinien tehtävät
VP1-VP4	Toimivat kapsidiproteiineina
2A ^{pro}	Osallistuu polyproteiinin proteolyttiseen pilkkoutumiseen
2B ja 2BC	Replikaation aloitus ja vesikkeleiden indusointi
2C	Solukalvon permeabilisointi lyyttisen kierron lopussa
3AB	Muodostaa aloituskompleksin replikaation alussa
3CD	Osallistuu RNA-replikaatioon ja polyA -hännän muodostumiseen
3A	Osallistuu RNA-replikaatioon
Vg	Osallistuu polyA -hännän muodostumiseen, replikaatioon ja translaatioon
3C ^{pro}	Osallistuu polyproteiinin proteolyttiseen pilkkoutumiseen
3D ^{pol}	RNA polymeraasi, osallistuu replikaatioon

Enterovirusilla translaatiota pidetään replikaation ensimmäisenä vaiheena. Siinä muodostetaan proteiineja replikaatiota varten. Virusgenomin replikaatio tapahtuu isäntäsolun solulimassa, vesikkeleitä muistuttavassa replikaatiokompleksissa. Replikaatio tapahtuu negatiivisen juosteen kautta. RNA-polymeraasi (3D^{pol}) kopioi positiivisen genomisen RNA juosteen negatiiviseksi juosteeksi. Kyseinen negatiivinen

juoste toimii templaattina uusien positiivisten RNA juosteiden synteessissä. VPg, joka on kovalenttisesti sitoutunut 5'-päähen osallistuu sekä positiivisen että negatiivisen juosteen replikaatioon ja on välttämätön juosteen synteessin aloitukselle. Vaikka enterovirusten replikaatio tapahtuu sytoplasmassa, genomista transloitu 3CD-proteiini sisältää tumakuljetussignaalin, jonka avulla se siirtyy tumaan. Siellä se inhiboi ja häiritsee isäntäsolun omaa proteiinisynteesiä. (Benard & Sempler 2004; Egger & Bienz 2005.)

Heti translaation jälkeen sytoplasmaan alkaa kehittyä vesikkeleitä, jotka sulautuvat yhteen solulimakalvoston kanssa. Vesikkeleistä muodostuu solulimakalvostossa replikaatiokomplekseja, jotka muodostuvat enteroviraalisesta negatiivisjuosteisesta RNA:sta sekä proteiineista. Tämän jälkeen replikaatiokompleksit hakeutuvat tuman läheisyyteen, jossa syntetisoidaan positiivisen juosteen virusproteiinit. Enterovirusinfektio aiheuttaa isäntäsolussa morfologisia muutoksia, sillä virus aiheuttaa solun sisäisten membraanirakenteiden hajoamista ja uudelleen järjestäytymistä. (Egger & Bienz 2005; Racinello 2007, 812-815.)

RNA-polymeraasi (3D) tekee kopiaoidessaan useita virheitä, minkä takia jokainen uusi virusgenomi poikkeaa noin yhden nukleotidin verran mallijuosteestaan. Lopputuloksena syntyy kokoelma geneettisesti erilaisia viruksia, joista parhaat lisääntyvät tai esimerkiksi hoidolle resistentit virukset selviävät. (Hyypiä, Roivanen & Ruuskanen 2010, 513.) Viruksen ensimmäisessä morfogeneettisessä vaiheessa VP0-, VP1- ja VP3 - kapsomeerit muodostavat protomeeriyksikön, jossa on rakenteena yksi kutakin kapsomeeriä. Protomeerit järjestäytyvät pentameereiksi, joissa on viisi yksikköä (Palmenberg 1982). Pentameerit järjestäytyvät itsenäisesti tyhjiksi kapsideiksi, joihin RNA siirtyy. Osa syntyvästä genomisesta materiaalista pakkautuu tyhjiin kapsideihin, kun taas osa toimii RNA:na uusien virusproteiinien tuotannossa. Virusten vapautuminen solusta tapahtuu sytopaattisten vaikutusten avulla eli solua vaurioittavien mekanismien kautta. Tapahtumassa solun kalvojen läpäisevyys lisääntyy, kromatiini kondensoituu ja solun sisäinen neste vuotaa ulos sekä solu kutistuu. (Racinello 2007, 826-827.)

6.4 Enterovirusinfektiot

Enterovirustartunta saadaan yleensä fekaalis-oraalisen tartuntareitin kautta. Tämä tarkoittaa sitä, että virus kulkeutuu ulosteesta käsiin, käsistä toisiin ihmisiin ja lopulta suuhun. Enterovirukset tarttuvat myös tehokkaasti pisaratartuntana hengitystieeritteiden välityksellä. Virukset ovat happostabiileja, joten ne voivat kulkeutua mahalaukun kautta ohutsuoleen tuhoutumattomina. Viruksen ensivaiheen lisääntyminen eli niin kutsuttu primaarireplikaatio tapahtuu suolen limakalvolla ja sen alaisessa imukudoksessa. Primaarireplikaation aikana viruspitoisuudet ovat erittäin korkeat, esimerkiksi nielurisoissa. Sairaus ei ole tässä vaiheessa vielä puhjennut ja potilas on yleensä oireeton. Potilaalle tulee oireita vasta, kun virus on levinnyt viremian kautta sekundaarikohdekudokseen, esimerkiksi sydänlihakseen. Noin 4–8 %:lle potilaista tulee toisen viremiajakson jälkeen flunssan kaltaisia oireita, kuten kurkkukipua, kuumeilua, pahoinvointia ja oksentelua. Enterovirustautien itämisaika tartunnasta oireiden alkamiseen vaihtelee yhdestä vuorokaudesta pariin viikkoon. Taudin oireista riippumatta viruksen lisääntyminen voi jatkua suoliston limakalvonlaisessa imukudoksessa useita viikkoja ja se voi erittyä ulosteeseen jopa kuukausia akuutin vaiheen jälkeen. On myös mahdollista, että enterovirusinfektio kroonistuu henkilöllä, joilla on vasta-ainevälitteisen immuunipuolustuksen toimintavajaus. Tekijöitä, jotka lopulta tuhoavat infektion, ei tunneta vielä kovin yksityiskohtaisesti. (Peltola 2008; Hyypiä, Roivanen, & Ruuskanen 2010, 515; Hukkanen, Saksela & Hyöty 2010, 432-436.)

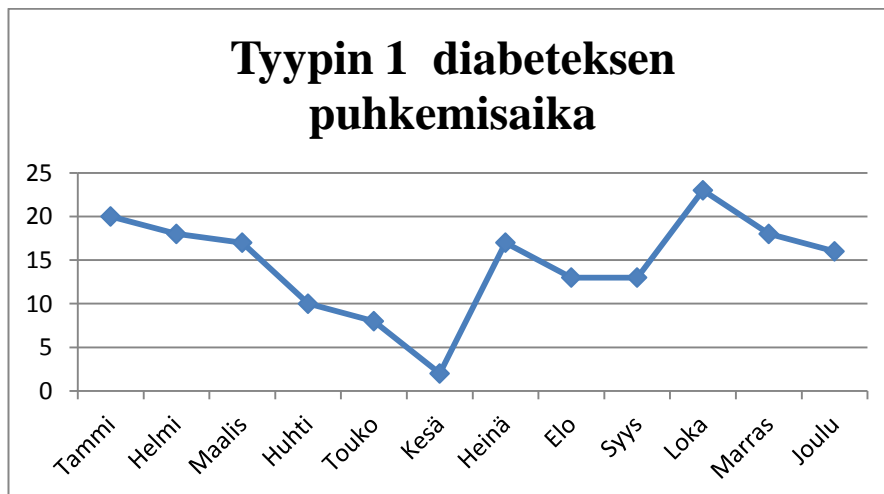
Enterovirusinfektion aiheuttamia tauteja ovat muun muassa, virusмениngiitti, enterorokko, sydänlihastulehdus ja poliomyeliitti. Luultavasti suurin osa enterovirusinfektioista on kuitenkin tavallisen flunssan kaltaisia. Lapsilla välikorvatulehdus ja hengityksen vinkuminen ovat yleensä entero- tai rinoviruksen aiheuttamia. Enterovirusinfektioihin saattaa myös liittyä makulopapulaarista ihottumaa tai nokkosrokkoa, jota esiintyy vartalon ja raajojen alueella. (Peltola 2008.)

Enterovirusinfektioita esiintyy eniten loppukesällä ja syksyllä. Noin 5% leikki-ikäisistä lapsista erittää entorovirusta kyseisenä aikana. Trooppisen ilmaston maissa enterovirusinfektioita esiintyy ympäri vuoden. Enterovirusten serotyypeillä on tyypillistä maantieteellisesti rajoittunut esiintyminen, puhutaan niin kutsutuista endeemisistä lajeista. Huonosta hygieniasta johtuen kehitysmaissa jopa 30-40% lapsista erittää

ympäri vuoden yhtä tai useampaa enterovirus serotyyppiä. (Hyypiä ym. 2010, 520.) Enterovirukset voivat aiheuttaa myös epidemioita. Vuonna 2008 Kiinassa Fuyangissa todettiin 6049 enterorokkotapausta, joista 353 oli vakavia ja 22 johti kuolemaan. Alle kolmevuotiailla lapsilla todettiin neljä viidesosaa tapauksista. Taudin syyksi todettiin enterovirus 71. (Peltola 2008.)

Tyypin 1 diabeteksen epidemiologiset tutkimukset keskittyvät aikaan, jolloin tauti on juuri puhkeamaisillaan. Enterovirusten epäillään olevan osasyllisiä taudin puhkeamiselle. Jo 1920-luvulla tehdyt tutkimukset osoittavat, että sairastuvuudessa on selviä piikkejä syksyllä, talviaikaan sekä aikaisin keväällä. Aikana, jolloin on myös eniten enterovirusinfektioita. Myöhemmin Gable ja Taylorin (1969) tekemä tutkimus antaa viitteitä, että enterovirusinfektioilla ja diabeteksen puhkeamisella olisi kausittainen yhteys. Taudin puhkemainen noudattaa samaa sykliä vielä tänä päivänäkin. Sairauden kausittainen puhkeaminen on esitetty taulukossa 2. Diabeteksen puhkeaminen oli myös kausittaista maissa, jossa on erityisen kylmä talvella. Syy tyypin 1 diabeteksen kausittaiseen puhkeamiseen on vielä epäselvä. Tutkimuksissa on esitetty, että ruokavalion muuttuminen, koulujen alkaminen ja lomien ajoittuminen talvikauteen saattaisi olla syy diabeteksen puhkeamiselle. (Taylor 2013, 101-103.) Peltosen tekemä tutkimus DIPP-lapsista osoitti, että enterovirusinfektiot olivat painottuneet syksy- ja talviaikaan. Kevät- ja kesäkuukausina infektioiden määrässä oli selvästi nähtävissä notkahduksia. Viruksen esiintyminen oli yleisintä vuosina 1997, 2001 ja 2005, jolloin peräti 20 % otetuista näytteistä sisälsi enteroviruksen RNA:ta. (Peltonen 2010.)

TAULUKKO 2. Taulukko kuvaa diabeteksen puhkeamista eri kuukausina. (Gamble and Taylor 1969, muokattu.)



7 TYYPIN 1 DIABETEKSEN PATOGENEESI

Tyypin 1 diabeteksen ja virusten välistä yhteyttä on tutkittu jo 1980-luvulta asti ja todennäköisimpänä diabetesta aiheuttavana virusryhmänä voidaan pitää enterovirusia. Tutkimukset osoittavat, että enterovirus saattaa aiheuttaa jopa yli puolet tyypin 1 diabetes tapauksista. Enterovirusia on löydetty diabeetikoiden insuliinia tuottavista β -soluista. Diabetogeenisimpänä enteroviruslajina pidetään enterovirus B -ryhmän viruksia. Enterovirusten osuutta tyypin 1 diabeteksen puhkeamisen laukaisevana tekijänä ei ole kyetty täysin todistamaan eikä suoraa näyttöä enterovirusinfektioiden aiheuttamasta diabeteksestä ole. (Roivainen 2006). Viitteitä enterovirusten ja tyypin 1 diabeteksen välisestä epidemiologisesta yhteydestä on kirjallisuudessa kuitenkin runsaasti. Seuraavissa kappaleissa on esitetty mahdollisia sairauden kulkuun ja puhkeamiseen vaikuttavia virustekijöitä.

7.1 Hygienia- ja poliohypoteesi

Hygieniahypoteesissa tyypin 1 diabetes ajatellaan kuuluvan autoimmuunisairauksiin, jotka kehittyvät spontaanisti tai saavat alkunsa muusta syystä kuin enterovirusinfektiosta. Hygieniahypoteesi perustuu NOD-hiirillä (Non-Obese Diabetic) tehtyihin eläinkokeisiin. Kyseisille hiirille kehittyy spontaanisti autoimmuunireaktio, joka vahingoittaa beetasoluja ja johtaa tyypin 1 diabeteksen kaltaiseen tilaan. (Hyöty 2013, 137-138.) Useat mikrobit voivat myöhästyttää tai jopa estää kyseistä prosessia. Tämä tarkoittaisi sitä, että tietyissä olosuhteissa mikrobeilla voisi olla suojaava vaikutus taudin puhkeamista vastaan, aivan kuten allergioissakin. Viimeisimmät tutkimukset tukevat hygieniahypoteesia, sillä havainto osoittaa, että tyypin 1 diabetes ja IgE-keskeiset allergiat esiintyvät ryhmissä, jotka ovat seronegatiivisia hepatiitti-A virukselle. Tästä johtuen eläminen erittäin hygieenisissä olosuhteissa saattaa johtaa heikentyneeseen immuunisäätelyyn ja altistaa immuunikeskeisille taudeille. (Seiskari ym. 2010.)

Viskarin työryhmä esitti vuonna 2000 uuden hypoteesin, joka selittää tyypin 1 diabeteksen merkittävää lisääntymistä länsivaltioissa toisen maailmansodan jälkeen. Tutkimuksessa ehdotetaan, että ilmiö on yhteydessä enterovirusten kiertokulkuun.

Hypoteesi nimettiin ”poliohypoteesiksi”, koska siinä on nähtävissä samantapaisia epidemiologisia piirteitä kuin poliiossa. Poliohypoteesin mukaan, alhainen enterovirusinfektioiden määrä väestössä lisää tyypin 1 diabeteksen riskiä, altistamalla lapset herkemmin enteroviruksen aiheuttamalle beeta-solutuholle. (Viskari ym. 2000.) Poliohalvaus alkoi yleistyä länsimaissa 1900-luvun alkupuolella samaan tapaan kuin tyypin 1 diabetes lisääntyy nyt. Halvausten yleistyminen johtui siitä, että hygienian parantuessa poliovirusten kierto väestössä hidastui ja infektiot harvinaistuivat. Tästä johtuen lapset sairastivat ensimmäiset poliovirusinfektionsa aiempaa myöhemmin, yli puolenvuoden iässä. Tällöin äidiltä istukan kautta saadut vasta-aineet olivat jo kadonneet, mutta lapsen oma vasta-ainetuotanto oli vielä puutteellista. Virus levisi elimistössä ja tuhosi osan selkäytimen hermosoluista. Polio saatiin myöhemmin kuriin rokotteella. Nyt tutkimuksen alla onkin kysymys, olisiko diabetes torjuttavissa samoin keinoin. Poliohypoteesia tukee se, että diabetesbuumin kärkimaihin kuuluvissa Suomessa ja Ruotsissa enterovirusinfektiot ovat kolmen viime vuosikymmenen aikana vähentyneet. (Kallio 2007.)

Ensimmäiselle infektiolle altistutaan pian syntymän jälkeen. Väestössä, jossa esiintyy paljon enterovirusinfektioita, on alhaisempi riski sairastua tyypin 1 diabetekseen. Infektiot, jotka tapahtuvat äidin vasta-aineiden läsnäollessa, aiheuttavat lapselle immuunivasteen, mutta se pysyy pintapuolisena. Lapsen oma enterovirusimmunitetti kehittyy asteittain lapsen altistuessa erilaisille infektioille, aikaansaaden T-solujen muistin lisääntymistä. Nämä T-solut voivat lisätä enterovirusspesifistä immuunivastetta joko nopeuttamalla patogeenin eliminointia tai hidastaen sen levittäytymistä. (Zinkernagel 2001.) Kontrastina väestössä, jossa esiintyy vähän enterovirusinfektioita, on korkeampi riski sairastua tyypin 1 diabetekseen. Vastasyntyneet kärsivät äidin vasta-aineiden määrän puutteesta. Immuunipuolustus enteroviruksia vastaan riippuu suuresti neutraloivista vasta-aineista. Nämä vasta-aineet ovat serotyyppispesifisiä tehden lapsen täysin suojaamattomaksi niitä viruksia vastaan, joille äiti ei ole altistunut. Kun infektiota ilmenee myöhemmin, aikana, jolloin äidin vasta-aineet ovat jo kadonneet ja rintaruokinta loppunut, tämä aiheuttaa ajanjakson lapsuuteen, jolloin molemmat synnynnäinen ja hankinnainen immuunipuolustus ovat heikkoja. Tuona aikana äidiltä saadut vasta-aineet olisivat kompensoineet puolustusta enteroviruksia vastaan. (Hyöty 2013.)

Poliohypoteesia on tutkittu monissa eri tutkimuksissa. Näissä tutkimuksissa on vertailtu enterovirusinfektioiden esiintyvyyttä tiettyinä aikoina tyypin 1 diabetespotilailla. Viskarin tutkimus julkaisi vuonna 2000 tutkimuksen Suomesta, jossa tyypin 1 diabeteksen esiintymistiheys on korkein maailmassa ja on viisinkertaistunut viimeisen viidenkymmenen vuoden aikana. Vuosina 1983-1995 raskaana olevilta naisilta kerättiin näytteitä, joissa todettiin olevan vähentynyt määrä enteroviruksen vasta-aineita. Myöhemmin suoritettiin tutkimus Suomessa sekä Ruotsissa, jossa käytetty mittausten menetelmä detektoi vasta-aineita eri enterovirusserotyyppejä kohtaan. Tutkimus osoitti, että laajakirjoisempi altistus enterovirusia vastaan oli vähentynyt. Tämä tarkoittaa sitä, että yhä enemmän syntyy lapsia, jotka kärsivät äidin vasta-aine puutoksista ja ovat täten alttiimpia enterovirusinfektioille. (Viskari ym. 2005.)

Viskarin tutkimusryhmä on myös tehnyt tutkimuksen, jossa mitattiin enterovirusinfektioiden määrää maissa, joissa on erityisen korkea tai matala riski sairastua tyypin 1 diabetekseen. Tuloksena oli, että enteroviruksen vasta-ainetasot olivat matalimmat maissa jossa oli korkeampi riski sairastua tyypin 1 diabetekseen. Erityisesti Suomessa oli alemmat vasta-ainetasot verrattuna muihin maihin. Esimerkiksi 42 % raskaana olevista suomalaisäideistä kärsi alentuneesta neutraloivasta vasta-ainetasosta. Kun taas naapurissamme Virossa ja Venäjän Karjalassa vastaava luku oli 14 %. (Hyöty 2013.) Viskarin mukaan enterovirusinfektioiden kokonaismäärä on laskenut viime vuosina, mutta alle kuusikuukautisten lasten sairastuvuus enterovirusinfektioihin on lisääntynyt. Tämä tukisi teoriaa, jossa äidiltä saatujen vasta-aineiden taso on heikentynyt. (Viskari ym. 2000.)

Ilmeisesti tyypin 1 diabeteksen suuren lisääntymisen selitykseksi tarvitaan näitä kumpaakin teoriaa. Ne eivät sulje toisiaan pois, vaan selittävät taudin eri vaiheita. Alku sopii poliohypoteesiin. Hypoteesi kertoo, miksi lapsi on herkkä enterovirusinfektioille. Jos virus sitten pääsee haimaan, tautiprosessi jatkuu niin kuin hygieniahypoteesi esittää. Elimistön puolustusjärjestelmä harhautuu hyökkäämään beetasoluja vastaan ja pahimmassa tapauksessa jatkaa niiden tuhoamista diabeteksen puhkeamiseen asti. (Kallio 2007.)

7.2 T-solujen rooli

Beetasolutuhoon aiheuttavat todennäköisimmin T-solut, jotka tunnistavat saarekesoluspesifisiä autoantigenejä. T-solujen osuus tyypin 1 diabeteksen synnyssä perustuu useisiin tutkimuksiin. T-soluja voidaan löytää immunohistokemiallisin menetelmin saarekesolujen läheisyydestä. (Willcox ym. 2009.) Tutkimuksissa on pystytty löytämään geenejä, jotka liittyvät tyypin 1 diabetekseen sekä vaikuttavat T-solujen toimintaan. CD4⁺ sekä CD8⁺ T-solujen poisto NOD hiirillä, estää diabeteksen synnyn. Tämä indikoi sitä, että molempia T-soluja tarvitaan taudin puhkeamiseen. Useat raportit indikoivat, että tauti voi kehittyä henkilölle, joka on saanut luuydinsiirteen henkilöltä, joka sairastaa tyypin 1 diabetesta. Tässä tapauksessa sairaus voidaan estää, tuhoamalla synnynnäiset muisti-T-solut. Tämä vahvasti viittaa siihen, että muisti-T-solut reagoisivat saarekesoluspesifisiä autoantigenejä kohtaan. (Eichmann & Peakman 2013, 279.)

T-lymfosyyttinen osallistuminen beetasolutuhoon johtuu elimistön toleranssin häiriintymisestä. Kateenkorvassa tapahtuu T-lymfosyyttien tarkistus. Solut, jotka reagoivat liian suurella affiniteetilla omia kudosaantigenejä kohtaan, tuhoutuvat apoptoosilla. Vaikka 95-99 % T-soluista käy läpi tämän prosessin, on todennäköistä, että prosessissa tapahtuu myös virheitä. Jotta autoimmuniprosessi voisi tapahtua, on perifeerisessä veressä oltava soluja, jotka tunnistavat oman kudoksen vieraaksi. Immunitoleranssi toimii monien eri mekanismien kautta, joten on selvää, että autoimmunisairauden puhkeamiseen vaaditaan useiden eri patologisten prosessien pettämistä. Taudin puhkeamiselle avainasemassa ovat CD4⁺ -auttaja T-solut, jotka tunnistavat oman peptidi-HLA kompleksin vieraaksi patogeeniksi. (Eichmann & Peakman 2013, 279.)

Prosessiin kuuluu neljä eri tarkistuspistettä, joissa kaikissa on tapahduttava virhe, jotta tuloksena syntyisi autoimmuunitauti. Tarkistuspisteitä ovat epitooppien esittely kateenkorvassa, perifeerinen immuunisäätely, autoantigeenien esittely ja ristireaktio. Enterovirus voi vaikuttaa jokaiseen yllä mainittuun vaiheeseen. Puutteellinen MHC-molekyylien epitooppien esittely kateenkorvassa saa aikaan useita autoimmuunitauteja. T-solujen tulee sitoutua MHC-molekyyliin, jotta se ei tuhoutuisi. Mikäli MHC-molekyyliä ei ole tarpeeksi tarjolla, T-solu voi päästää prosessista erheellisesti läpi ja tunnistaa virheellisesti kudoksen omia antigenejä. (Eichmann & Peakman 2013, 272-

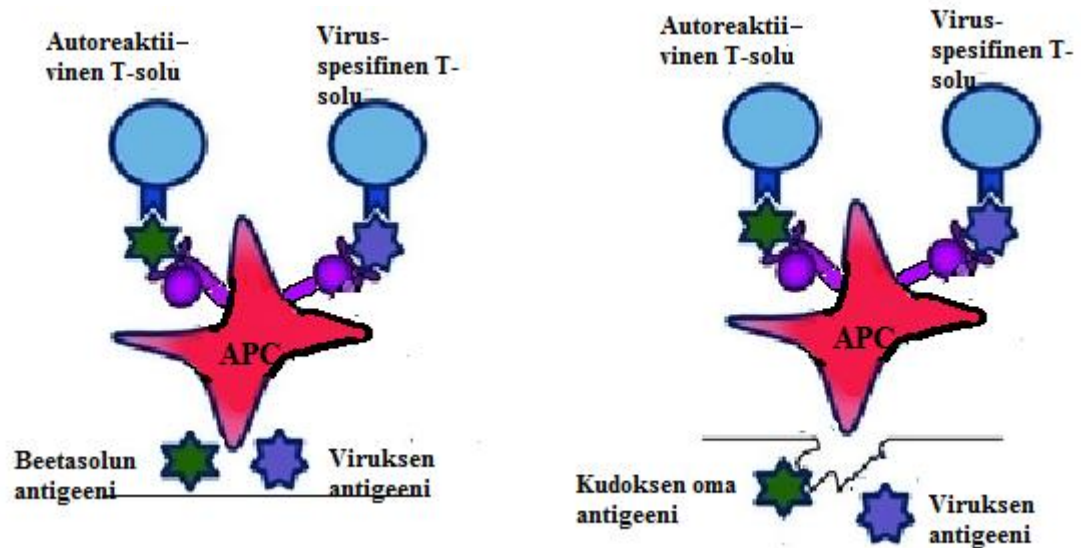
275; Reop 2003.) Tutkijat pohtivatkin, voivatko vauvaiässä sairastetut infektiot vaikuttaa kyseiseen prosessiin. Asiaa ei ole vielä tutkittu kovin tarkasti, mutta joitain viitteitä on saatu NOD-hiirillä tehtävissä eläinkokeissa. Coxsackievirus B4 on todistettu aiheuttavan lymfosyyttien epätäydellistä kypsymistä kateenkorvassa. (Brilot, Jaidane, Geenen, Hober 2008.)

Perifeerinen toleranssi tapahtuu, kun T- ja B-solut kypsyvät ja siirtyvät perifeeriseen lymfakiertoon. Perifeerisessä toleranssissa esiintyy vähemmän regulatorisia T-soluja ja enemmän autoreaktiivisia T-soluja. Regulatoristen T-solujen tehtävänä on vaimentaa sytotoksisten ja auttaja-T-solujen reaktiivisuutta elimistön omia kudoksia kohtaan. Tutkimuksissa on osoitettu, että regulatoristen solujen toiminta on häiriintynyt tyypin 1 diabetesta sairastavilla potilailla. Myös enterovirusten uskotaan infektiollaan vaikuttavan regulatoristen solujen toimintaan häiritsevästi. (Eichmann & Peakman 2013, 275.)

On myös hyvin todennäköistä, että virusinfektio voi vaikuttaa myös kolmanteen tarkistusvaiheeseen eli antigeenin esittelyyn beetasoluissa. *In vitro* enterovirukset ovat tunnettuja niiden lyyttisistä ominaisuuksistaan. Jos lyyttinen kierto tapahtuisi *in vivo*, se merkitsisi, että intrasellulaarisia antigeenejä vapautuisi solun sisältä suuria määriä ympäröiviin kudoksiin. Tämä vaatisi todennäköisesti tulehduksellisen ympäristön, jossa aktivoituneet dendriittisolut voisivat sitoutua autoantigeeneihin esitellen niitä CD4⁺ ja CD8⁺ T-soluille. Tapahtuma indikoi, että enterovirukset voisivat toimia beetasolutuhon käynnistäjinä tyypin 1 diabeteksessa. (Eichmann & Peakman 2013, 275.) Useissa eri tutkimuksissa on kuitenkin saatu ristiriitaista tietoa aiheesta. Prospektiivisissa seurantatutkimuksissa on saatu viitteitä, että enterovirusinfektio ilmenisi samaan aikaan kuin autoimmuunituho tapahtuisi, kun taas eläinkokeissa enteroviruksen on osoitettu vain kiihdyttävän taudin kulkua. (Oikkarinen ym. 2011). Uusimmassa Yeungin (2011) tekemässä tutkimuksessa kuitenkin osoitettiin, että enterovirusinfektiolla olisi rooli taudin viimeisissä vaiheissa. (Yeang, Rawlinson, Craig 2011).

Todennäköisin tilanne jossa dendriittisolut ovat aktivoituneita, on infektion aiheuttama vaste. On kehitetty kaksi immuniteteoriaa, johon kuuluu infektoiva tekijä. Molecular mimicry (molekulaarinen yhdennäköisyys) ja Bystander activation (omien antigeenien aktivaatio). Aktivaatiot ovat esitettyinä kuvassa 6. Tutkijat ovat keskittyneet Coxsackievirus ja antigeeni GAD65 sekä Rotavirus VP7 ja islet antigen 2 väliseen

ristireaktioon. Kyseiset molekyylit omaavat samantapaisia sekvenssejä, jolloin T-solut voisivat tunnistaa rakenteen erheellisesti. Puhutaan niin kutsutusta molekulaarisesta yhdenmukaisuudesta. Hypoteesin mukaan tietyissä olosuhteissa epitooppien yhdenmukaisuus voisi laukaista autoreaktiiviset lymfosyytit tunnistamaan oman kudoksen proteiineja. Omien antigeenien aktivaatiossa (Bystander activation) tapahtuu kudostuhoa, nekroosia, jolloin APC-solujen sisälle päätyy myös omien solujen partikkeileita virusantigeenien ohella. Kun APC-solu sitten esittelee viruksen antigeenejä T-soluille, se tulee myös esitelleeksi oman kudoksen partikkeileita. Tällöin T-solut voivat erheellisesti päätyä tuhoamaan oman kudoksen rakenteita. (Fujinami, Herrath, Christen & Whitton 2006.)



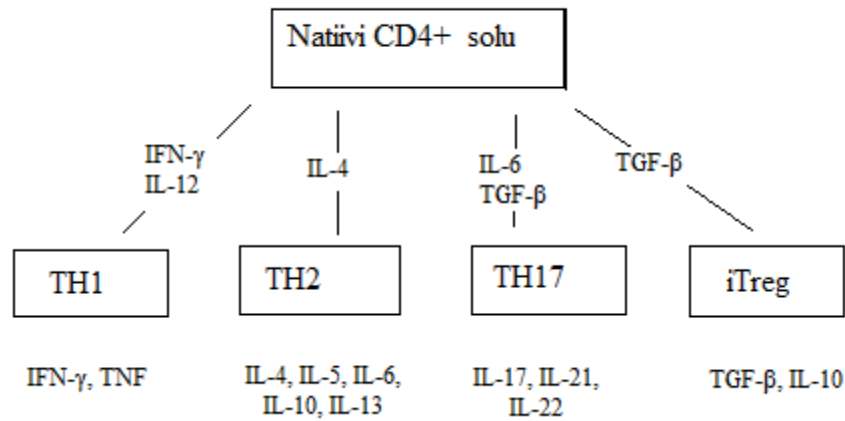
KUVA 6. Ensimmäinen kuva demonstroi rakenteiden yhdenmukaisuutta (molecular mimicry). Toisessa kuvassa on kuvattu omien antigeenien aktivaatiota (bystander activation). (Eichmann & Peakman 2013, 276, muokattu.)

T-solujen toimintaa on tutkittu myös lähemmin ja tavoitteena onkin selvittää, mitkä solujen erittämistä sytokiineistä voivat mahdollisesti vaikuttaa beetasolujen tuhoutumisprosessiin. Tärkein vaatimus T-soluja tutkittaessa on taudin autoantigeenien identifikaatio eli T-solujen kohde-epitooppien tunnistaminen. DiLorenzon tutkimusryhmä on luonut laajan listan beetasoluspesifisistä antigeeneistä ja niiden epitoopeista. (Di Lorenzo, Peakman, Reop 2007.) Näiden listojen avulla tutkijat ovat alkaneet tutkia T-solujen toimintaa ja niiden läsnäoloa haimakudoksessa. Tutkimukset perustuvat verestä tehtyihin mittauksiin, sillä haimaan ja sen imusolmukkeisiin on

vaikea päästä käsiksi. $CD4^+$ T-soluilla on tärkeä rooli haimatulehduksessa, vaikka kyseisiä soluja ei esiinny numeerisesti montaa. Sytokiinit ja kemokiinit, kuten IL-12 ja TGF- β määräävät $CD4^+$ T-solujen erilaistumisen. Kuvassa 7 on esitetty T-solun erilaistuminen. Yksi näistä erilaistuneista soluista on auttaja-T-solu (T_H1). Tutkimuksissa on havaittu, että T_H1 solut ovat tärkeässä roolissa tyypin 1 diabeteksen patogeenisissä. Kyseiset solut erittävät pro-inflammatorisia sytokiineja, kuten IFN- γ ja tuumori nekroosi tekijöitä (TNF- α). Näillä pro-inflammatorisilla soluilla on kyky vahingoittaa suoraan beetasoluja sekä lisäksi ne pystyvät aktivoimaan autoreaktiivisia $CD8^+$ T-soluja. (Eichmann & Peakman 2013, 281-282.)

$CD8^+$ sytotoksiset lymfosyytit tunnistavat HLA-luokan molekyylien epitooppeja, joista osan tiedetään liittyvän kohonneeseen diabetesriskiin. $CD8^+$ T-solut kykenevät tuhoamaan infektoituneita tai epänormaaleja soluja sytotoksisen apoptoosin kautta. Solut erittävät sytotoksiineja, kuten perforiinia ja TNF- α . Perforiini on solun hajottava proteiini, jota on T-solujen sisällä rakkuloissa. Vapautuessaan perforiini sulautuu kohdesolun solukalvoon. Solukalvolla se polymeroituu ja muodostaa renkaan, jonka keskellä on aukko. Aukon välityksellä solu tuhoutuu sytolyyysillä. Eläinkokeissa on osoitettu, että perforiini ja TNF- α reitit olisivat pääroolissa ensimmäisen vaiheen beetasolutuhossa. (Eichmann & Peakman 2013, 281-282.) Eläinkoemalli on esitetty myöhemmin tässä luvussa.

Arifin tekemässä tutkimuksessa vuonna 2004 osoitettiin kuitenkin, että diabeetikoiden verestä löytyy auttaja-T-solun toista muotoa T_H17 :ta. T_H17 erittää interleukiini 17 (IL-17), joka kiihdyttää tulehdusta ja autoimmunitettä. (Arif ym. 2004.) Eläinkokeissa IL-17 neutralisaatio esti tyypin 1 diabeteksen puhkeamisen. Kyseisen interleukiinin inhibiitio johti vähentyneeseen saarekesoluspesifisten T-solujen infiltraatioon ja lisäsi regulatoristen solujen määrää saarekkeissa. (Emamaullee ym. 2009.) On vielä epäselvää, kilpailevatko T_H1 ja T_H17 solut beetasolutuhoprosessissa vai dominoiko jompikumpi T-solu toista. On myös mahdollista, että prosessissa on erilaiset vaiheet molemmille soluille. (Eichmann & Peakman 2013, 282.)



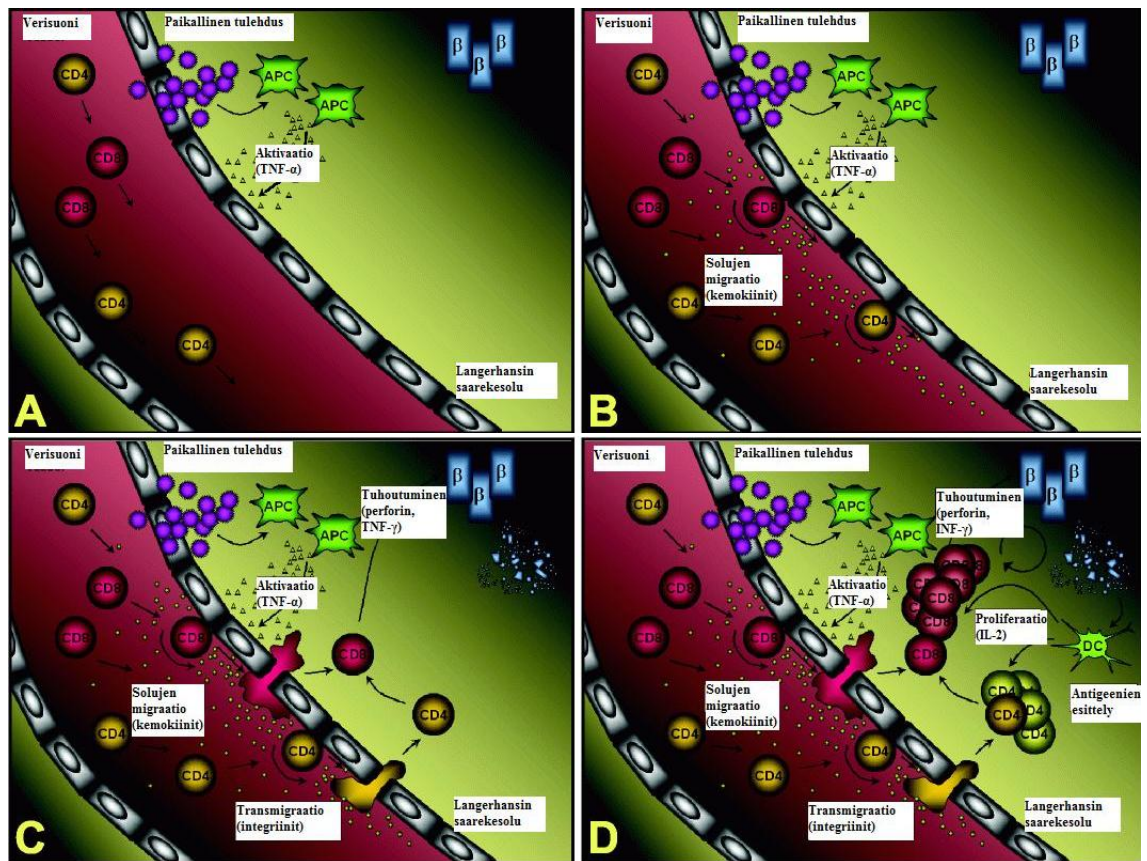
KUVA 7. CD4+ solujen erilaistuminen ja siihen vaikuttavat tekijät. (Eichmann & Peakman 2013, 281, muokattu.)

7.3 Eläinkoemallit

Yli 30 vuoden ajan tyypin 1 diabeteksen tutkimukseen on käytetty NOD- hiiriä. NOD-hiiri on käytetyin eläinmalli tyypin 1 diabeteksen tutkimisessa. Makino ja hänen kollegansa kehittivät hiirikannan 1980-luvulla Shionogin tutkimuslaboratoriossa Aburahissa, Japanissa. NOD-hiirille on tyypillistä, että ne kehittävät spontaanisti diabeteksen. Naarat kehittävät diabeteksen 60-80 % todennäköisyydellä, kun taas uroshiirillä vastaava luku on 20-30 %. Taudin esiintyminen oli korkeinta, kun hiiriä pidettiin ”bakteeri vapaissa” olosuhteissa. Kun taas likaisissa olosuhteissa elävien NOD-hiirten sairastuvuus diabetekseen oli huomattavasti alhaisempi. Tarkkaa syytä tähän ei tiedetä, mutta tutkijat uskovat, että immuunipuolustus ei altistu allergeeneille tarpeeksi, jolloin voi kehittyä allergioita ja astmaa. Hygienian uskotaan myös vaikuttavan samalla tavalla diabetekseen. NOD-hiiret kehittävät autovasta-aineita haiman saarekkeita kohtaan samalla tavalla kuin ihmisetkin. Lisäksi hiirillä todettiin samanlaisia immunospesifisiä T-soluja verenkierrrossa kuin diabeetikoillakin. Nyt tutkijat ovat hiljattain kehittäneet hoitoja tyypin 1 diabeteksen estämiseksi NOD-hiirillä. (Makino ym. 1980.)

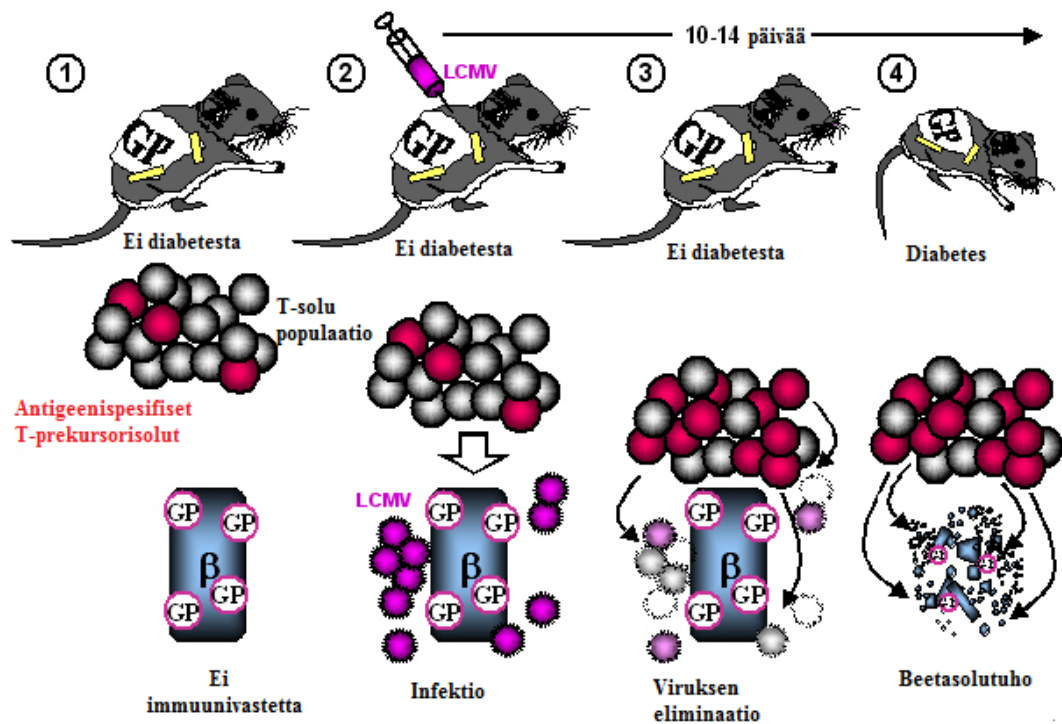
Toinen yleisesti käytetty eläinmalli on RIP-LCMV (”rat insulin promoter” controls expression of “lymphocytic choriomeningitis virus” protein). RIP-LCMV luotiin tunnistamaan potentiaalisia faktoreita, jotka osallistuvat akuuttiin ja krooniseen infektiin, aiheuttaen beetasolutuhoa T-solujen välityksellä. Patogeneesi on kuvattu

kuvassa 7. Viruksen aiheuttaman autoimmuunitien käynnistäminen tapahtuu kahdessa eri vaiheessa. Paikallinen infektiio haimassa ja/tai haiman imusolmukkeissa aiheuttaa paikallisten antigeenisittelijäsolujen (APC) aktiivaation. APC-solujen aktivoiduttua ne vapauttavat ympäristöön inflammatorisia tekijöitä kuten $TNF-\alpha$, joka puolestaan aiheuttaa sytokiinien ja kemokiinien, erityisesti CXCL10 vapautumisen endoteliaalisista soluista. Tämä saa aikaan virheellisesti beetasoluja tunnistavien CD4- ja CD8-T-solujen siirtymisen imusolmukkeesta verenkiertoon ja aina saarekesoluihin. Osa beetasoluista tuhoutuu perforiini ja $TNF-\gamma$ pohjautuvalla mekanismilla. Kuitenkaan tässä vaiheessa hiiret eivät ole vielä sairastuneet tyypin 1 diabetekseen, sillä jäljelle jääneet beetasolut pystyvät ylläpitämään insuliinin tuotantoa. Toisessa vaiheessa osittainen beetasolutuho aiheuttaa voimistuneen antigeenien esittelyvasteen APC-soluissa. APC-solut siirtyvät saarekkeista imusolmukkeisiin esittelemään beetasolun antigeenejä, joka aiheuttaa beetasoluspesifisten CD4- ja CD8-T-solujen räjähdysmäisen lisääntymisen. Verenkierron kautta antigeenispesifiset T-solut hyökkäävät jäljelle jääneiden beetasolujen kimppuun, aiheuttaen massiivisen glukoosipitoisuuden nousun veressä, joka lopulta johtaa kliiniseen diabetekseen. (Oldstone ym. 1991; Christen & Von Herrath 2013, 263-267.)



KUVA 7. Immunopatogeneesi (Christen & von Herrath 2013, 264, muokattu.)

Transgeenisen hiiren kehittäjät toimivat Oldstonen laboratoriossa Kaliforniassa 1990-luvun alussa. He kehittivät transgeenisen hiiren käyttämällä rotan insuliinigeenin promoottoria hyväkseen. Hiiret ilmensivät haiman beetasoluissa lymfosyyttisen chroriomeningitis-viruksen (LCMV) nukleiiniproteiinia (NP) tai glykoproteiinia (GP). Eläinkoe osoitti, kun hiiriä ei infektoitu viruksella, diabetestä ei myöskään kehittynyt. Kun taas hiirille annettiin LCM-virusta, ne kehittivät diabeteksen 95 % todennäköisyydellä. Hypoteesi on esitetty kuvassa 8. Tyypin 1 diabetes riippuu molempien autoreaktiivisten CD4- ja CD8-T-solujen toiminnasta. Taudin puhkeaminen ajallisesti riippui transgeenisestä hiirilinjasta. Transgeeniset linjat, jotka ilmensivät glykoproteiinia sairastuivat nopeammin diabetekseen (10-14 päivää infektion jälkeen). Tässä linjassa CD8-T-solut olivat tarpeeksi tehokkaista aiheuttamaan beetasolutuhoa ilman CD4-T-solujen apua. Toisessa linjassa, joka ilmensi nukleiiniproteiinia, diabeteksen puhkeaminen kesti 1-6 kuukautta. Useat eläinkokeet ovat osoittaneet, että CD8-T-solut tunnistavat NP-antigeenin alhaisemmalla affiniteetilla, jolloin ne tarvitsevat avukseen myös CD4-T-soluja. Tämä vaikuttaa siihen, että diabeteksen puhkeaminen kestää kauemmin. (The RIP-LCMV Model for Type 1 Diabetes; Oldstone ym. 1991; Ohashi ym. 1991.)



KUVA 8. RIP-LCMV-malli. (The RIP-LCMV Model for Type 1 Diabetes, muokattu.)

Tutkimuksissa on pystytty osoittamaan, että estämällä joitain immunopatogeneesiin vaiheita RIP-LCMV-mallissa, taudin puhkeaminen on myöhästynyt ja joissain tapauksissa puhkeaminen on estynyt kokonaan. Erityisesti tutkijoita kiinnostaa tekijä TNF- α toiminta, sillä sen ilmaantuminen verenkiertoon vaikuttaa suuresti taudin puhkeamiseen. Eläinkokeilla on demonstroitu, että estämällä TNF- α toiminta heti infektion jälkeen, se estää taudin puhkeamisen, inhiboimalla kriittisiä vaiheita tulehduksen aikana. Kyseistä menetelmää on testattu myös tyypin 1 diabeetikollapsilla positiivisin tuloksin. Kokeessa TNF- α neutralisointi etanerseptinillä, joka johti onnistuneeseen hoitovasteeseen. Etanersepti estää solujen välistä tiedonsiirtoa. (Mastrandea 2009). Toisaalta, TNF- α inhiboiminen aikana, jolloin saarekesolutuho on jo käynnissä, ei vaikuttanut tyypin 1 diabeteksen puhkeamiseen. (Christen & von Herrath 2013, 263-264.)

Samalla tavalla ajoitus on tärkeä, kun halutaan inhiboida immunopatogeneesiin osallistuvia sytokiinejä. Sytokiini CXCL10 on tärkeä taudin puhkeamisen kannalta. Sitä esiintyy suuria määriä LCMV-infektion jälkeen 1-4 päivän ajan. CXCL10 esiintymismäärä kuitenkin laskee 7-9 päivän jälkeen infektiosta. Täten CXCL10 blokkaminen tuotti onnistuneita tuloksia vain korkean konsentraation aikana. Puolestaan ylimäärä CXCL10 saarekesoluissa kiihdytti tyypin 1 diabeteksen puhkeamista RIP-LCMV mallissa. (Christen & von Herrath 2013, 263-264.)

7.4 Tyypin 1 diabeteksen ehkäisy

Tyypin 1 diabetes on lisääntynyt lyhyessä ajassa viisinkertaiseksi. Yhä nuoremmat lapset sairastuvat siihen ja kynnys sairastua tautiin on myös alentunut. Hypoteesin mukaan, muuttuneet epidemiologiset tekijät vaikuttavat eniten tyypin 1 diabeteksen kehittymiseen. Näihin tekijöihin lasketaan kuuluvaksi muun muassa virusinfektiot sekä immuunipuolustukseen vaikuttavat tekijät. Myös suolen mikrobiflooran arvellaan olevan yksi osatekijöistä. Taudin ehkäisemiseksi tarvitaan molempia primaarisia ja sekundaarisia ehkäisykeinoja. Sekundaarinen ehkäisykeino on kartoittaa lapsen riskiä sairastua tautiin. On tärkeää tietää, onko suvussa ensimmäisen tai toisen asteen diabeetikosukulaisia. Ainoastaan 10-15 % lapsista, jotka sairastuvat tyypin 1 diabetekseen, on lähisuvussa diabeetikkoja. Siksi perinnöllisen taustan selvittäminen ei riitä yksin ehkäisykeinoksi. (Insel 2013, 339, 344.)

Parhaimpina primaarisena ehkäisykeinona pidetään rokotteen kehittämistä. Rokotteen kehittäminen on ongelmallista, sillä monet tekijät vaikuttavat tyypin 1 diabeteksen puhkeamiseen. Tutkijoiden mukaan rokotteita täytyisi kehittää ainakin kolmea erilaista. Yksi rokote tehoaisi viruksiin, jotka vaikuttavat taudin puhkeamiseen, toinen rokoter ryhmä olisi beetasolu antigeenispesifiset immunoregulatoriset rokotteet ja kolmannen rokotteen tulisi lisätä suolen mikrobien immunoregulaatiota. Virus pohjaisen rokotteen kehittäminen on haastavaa. Vaikka enterovirusten on osoitettu vaikuttavan beetasoluspesifiseen autoimmuunivasteen syntymiseen, on vaikeaa määrittellä, mitkä enteroviruksen serotyypit ovat osallisena infektiioon. Myös sijainti sekä aika, jolloin sairastutaan enterovirusinfektioihin vaikuttavat serotyyppeihin. (Insel 2013, 344-345.)

Serotyyppeiden määrittäminen on edellytys mahdollisen rokotteen kehittämiselle. Useita erilaisia rokotteita on jo kehitteillä, joiden tarkoitus on vähentää beetasolu antigeenispesifisen immunotoleranssin kehittymistä. Jos rokotteet todetaan erittäin turvallisiksi ja tehokkaiksi, ne voisivat olla yksi mahdollisista rokotteista, joita käytetään tyypin 1 diabeteksen estämiseksi. Rokotteet, jotka kiihdyttävät tai lisäävät suolen mikrobi immunoregulaatiota, voisivat myös toimia tehokkaina rokotteina tautia vastaan. (Insel 2013, 344-345.)

Niin kauan kuin primaarinen ehkäisykeino ei ole saatavilla, tulee sekundaariehkäisyä jatkaa. Autovasta-aineiden detektointi riskifaktoreina on validoitu menetelmäksi, joka indikoi taudin kehittymistä. Nykyteknologia ei ole tarpeeksi kustannustehokas eikä tarpeeksi tarkka, jotta taudin kulku pystyttäisiin ennustamaan halutulla tavalla. On kuitenkin mahdollista, että vereen saattaa ilmaantua vaihtoehtoinen molekylaarinen biomarkkeri (metaboliitti tai jokin geenituote jne.), joka saattaa ilmaantua aikaisemmin ja on tarkempi taudinkulun seurannassa. Biomarkkerit, jotka havitsevat tulehduksen, beetasolutuhon tai niiden virheellisen toiminnan, saattavat palvella tätä tehtävää. (Insel 2013, 344-345.)

Historiasta tutkijat ovat oppineet, että on vaikeaa varmistaa mikrobin aiheuttama ja kroonisen sairauden välinen yhteys. Esimerkkeinä tästä ovat papilloomavirus ja kohdunkaulasyöpä sekä helikobakteerin aiheuttama vatsalaukun syöpä. Ehkä tyypin 1 diabetes pitäisi lisätä myös listaan. Useat todisteet osoittavat, että enterovirukset pystyvät aiheuttamaan diabeteksen eläimillä ja on todennäköistä, että jotkut niistä aiheuttavat sen myös ihmisellä. Enterovirusta pidetään todennäköisimpänä diabeteksen

aihettajana ihmisessä. Voidaan vain toivoa, että nopeasti laajenevassa tutkimustyössä tehdään läpimurto ja sen avulla kehitetään uusia hoitoja ehkäisemään sekä parantamaan tyypin 1 diabetesta. (Insel 2013, 344-345.)

8 HYVÄN POWER POINT- ESITYKSEN OMINAISUUKSIA

Power Point –esityksen tarkoituksena on lisätä viestin ymmärrettävyyttä, kiinnostusta sekä vakuuttavuutta. Tieto konkretisoituu paremmin, kun se esitetään esimerkiksi Power Pointin muodossa. Hyvin tehty ja esitetty Power Point lisää asian muistettavuutta. Nykyään diaesityksiä käytetään monissa eri tilanteissa. Esityksen alussa on aina hyvä herättää kohdeyleisön mielenkiinto aiheeseen. Sen voi toteuttaa aiheeseen liittyvällä kysymyksellä tai kuvalla. Mielenkiintoa tulee pitää yllä koko esityksen ajan. Jotta mielenkiinto ja keskittyminen aiheeseen säilyisi, on esityksen oltava selkeä ja ymmärrettävä. Helppolukuinen teksti sekä lyhyet ja konkreettiset sanat nostavat esityksen arvoa. (Airaksinen & Komulainen.)

Power Point -esitys toimii visuaalisena aineistona, jonka tarkoituksena on informoida kuulijaa aiheesta. Nähty informaatio säilyy mielessä pidemmän aikaa, kuin ainoastaan kuultu informaatio. Tästä syystä visuaalinen esitys saavuttaa kohdeyleisön helpommin. Esityksessä on hyvä käyttää kuvia selkeyttämään aihetta, mutta kuvia, jotka sisältävät paljon tekstiä tulisi välttää. Kohdeyleisön on hankala lukea esimerkiksi sarjakuvamaisia dioja. Ensimmäisessä ja toisessa diassa tulisi käydä ilmi esityksen sisältö. Näihin dioihin kirjoitetaan vain työn pääkohdat, joita tullaan käsittelemään. Näin kohdeyleisön on kiinnostavampi seurata esitystä ja kokonaisuuden ymmärtäminen helpottuu. Esityksessä voi käyttää ranskalaisin viivoin tehtyjä listoja, mutta yhdessä kohdassa ei saa olla yli viittä sanaa eikä listassa yli viittä kohtaa. Listoja ei myöskään kannata numeroida eikä niiden perässä käytetä pistettä. Kokonaisia lauseita tulisi välttää. Kuulijan on helpompi seurata tekstiä ja keskittyä kuuntelemaan luennoitsijan puhetta, mikäli siinä on käytetty ainoastaan avainsanoja ja lyhyitä ilmaisuja. Minuutissa luennoitsijan pitäisi ehtiä käymään läpi 1-2 diaa. Mielenkiintoisen alun lisäksi, on muistettava lopettaa esitys mielenkiintoisella tavalla. Tämä voi olla esimerkiksi yhteenveto asiasta, sitaatti tai lyhyt tarina. (Airaksinen & Komulainen; Making Power Point Slides.)

Power Pointin esitystä tehdessä on hyvä kiinnittää huomiota diojen ominaisuuksiin. Diojen taustaväri on osa esitystä, mutta se ei saa varastaa huomiota varsinaiselta tekstiltä. Tässäkin tapauksessa vähemmän on enemmän. Yksinkertainen tausta ilman kuvioiteja on toimivin vaihtoehto. Värit ovat olennainen osa diaesitystä. Tekstin värin

valinnassa tulisi kiinnittää huomiota riittävään kontrastiin fontin ja taustavärien välillä. Yhdessä diaesityksessä tulisi käyttää kolmesta viiteen eri väriä. Harmonisen vaikutelman voi luoda käyttämällä saman värin eri sävyjä. Väreillä on mahdollista luoda esteettistä näyttävyyttä ja tehostaa tekstin viestiä yleisölle. Värejä valittaessa tulee ottaa huomioon kohdeyleisö tai jos kyseessä on tiettyyn yritykseen tehtävä esitys, olisi esityksen hyvä myötäillä yrityksen värimaailmaa. (Airaksinen & Komulainen; Making Power Point Slides.)

Power Point esityksessä teksti tulee olla helposti luettavaa ja siihen kannattaa kiinnittää erityistä huomiota. Luettavuuteen vaikuttavat fontti, kirjainten pistekoko, tekstin väri ja tausta. Fontin valinta on tärkeä, koska sillä pystytään vaikuttamaan kohdeyleisön saamaan vaikutelmaan esityksestä. Suositeltavaa olisi, että fonttikokona ei käytetä pienempää kuin 18. Isompaa fonttikokoa kannattaa käyttää korostamaan pääkohtia, kun taas toissijaiset asiat kannattaa kirjoittaa pienemmällä. Fonttikoot 24-30 ovat hyviä, silloin tekstistä tulee selkeä ja helposti luettava. Otsikot tulisi sijoittaa aina dian vasempaan yläreunaan ja ne myös tulisi olla dian isoimmalla fonttikoolla. Esityksessä kannattaa käyttää myös standarditekstejä, kuten Arial tai Times New Roman. Isoilla kirjaimilla kirjoittamista tulisi välttää, sillä sitä on hankala lukea. Tekstiä voidaan lisäksi korostaa kursivoituilla kirjaimilla ja lihavoinneilla, mutta näitä kannattaa käyttää vain yksittäisiin sanoihin, ei kokonaisiin lauseisiin. Tällöin korostettu sana jää paremmin kohdeyleisön mieleen. (Airaksinen & Komulainen; Making Power Point Slides.)

9 TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ

Toiminnallisen opinnäytetyön tarkoituksena on tuottaa jokin käytäntöön soveltuva tuote raportin ohella. Tämä voi olla ohjelehtinen, Power Point -esitys tai jopa tapahtuman järjestäminen. Toteutustapa vaihtelee riippuen siitä, mitä tuotoksella tavoitellaan. Opiskelija voi halutessaan tehdä yritykselle kotisivut tai perehdytyskansion uutta työntekijää varten. Opinnäytetyön raporttiosuus käsittelee teoriapohjalta jotakin aihetta. Raportissa tulee käydä ilmi miten, miksi ja miten raportti on tehty. Toiminnallisen opinnäytetyön menetelmät-osiossa tekijän tulee mainita miten tuotos tehtiin, miten opinnäytetyöprosessi eteni ja minkälaisiin johtopäätöksiin työssä päädyttiin. (Vilka & Airaksinen 2003 51, 65)

Ammattikorkeakouluissa opinnäytetyöt ovat pääosin työelämälähtöisiä. Tavoitteena on, että opinnäytetyö on käytännönläheinen, jolloin opiskelija voi kehittyä ammatillisesti enemmän. Opinnäytetyötä valittaessa onkin tärkeää muistaa valita aihe, joka itseään kiinnostaa, sillä opinnäytetyö saattaa avata työpaikkoja tulevaisuudessa tai ainakin opiskelija pystyy luomaan suhteita työelämään. (Vilka & Airaksinen 2003, 16.)

Jokainen opinnäytetyö tulisi olla yksilöllinen ja edustaa työelämää, johon se tehdään. Opinnäytetyössä tulee ottaa huomioon työelämän toiveet ja suunnitella työ heidän tarpeisiinsa sopivaksi. Sisällön ja ulkoasun tulee vastata työelämän toimeksiantajien toiveita. Tuotosta suunnitellessa tulee ottaa huomioon sen informatiivinen puoli sekä ulkomuodolliset seikat. Monesti tuotos voidaan suunnitella ohjelehtiseksi potilaille, jolloin se tulee suunnitella yrityksen ulkonäkövaatimusten mukaiseksi. Lisäksi tuotoksen tulisi olla selkeä, johdonmukainen ja ennen kaikkea houkutteleva. (Vilka & Airaksinen 2003, 53.)

9.1 Opinnäytetyöprosessi

Sain opinnäytetyön aiheen kesällä 2012 kesätyöpaikastani TAYS:in Lastentautien tutkimuskeskukselta DIPP-tutkimuksesta. Aluksi tavoitteena oli tehdä toiminnallinen opinnäytetyö, jonka tarkoituksena oli saada vanhempien innoittamana lapsia keräämään enemmän ulostenäytteitä. Ulostenäytteistä tutkitaan muun muassa

enterovirusinfektioita. Syksyllä aloitin opinnäytetyön hahmottelemisen ja esitin alustavan suunnitelman ideaseminaarissa lokakuussa 2012.

Hyvin pian ideaseminaarin jälkeen kävi ilmi, että DIPP ulostenäytteiden keräys lopetaan. Uutisen jälkeen kävin keskustelua työelämäedustajan Mia Nyblomin kanssa ja hän ehdotti, että opinnäytetyö voisi edelleen käsitellä enterovirusia, mutta se olisi suunnattu työntekijöille, tarkoituksena lisätä heidän tietouttaan enteroviruksista. Päätimme, että opinnäytetyö on edelleen toiminnallinen, jossa toiminnallinen osuus suunnattaisiin lasten sijasta DIPP-tutkimusryhmän työntekijöille. Yhdessä opinnäytetyönohjaajien kanssa pohdimme, mitkä olisivat työni uusi tarkoitus ja tavoite. Alkuperäisen suunnitelman mukaan opinnäytetyöni olisi sisältänyt tietoa ulostenäytteen keräämisestä, mutta kyseinen osio jätettiin kokonaan pois työstä.

Käytyäni keskustelua työelämäedustajan kanssa, päätimme, että työn tulisi sisältää tutkimuspohjaista tietoa enteroviruksista ja miten enterovirusinfektiot liittyvät tyypin 1 diabetekseen. Opinnäytetyön aihe kuulosti aluksi laajalta, mutta aloitettuani kirjoittamaan työn rajaus kävi koko ajan selkeämmäksi. Olin päättänyt rajata työni koskemaan pääasiassa diabeteksen ympäristötekijöitä, erityisesti enterovirusia. Luvat opinnäytetyön kirjoittamiseen sain joulukuussa 2012, jonka jälkeen aloitin raporttiosuuden kirjoittamisen. Alussa haastavinta oli löytää uusimmat ja luotettavimmat artikkelit. Enterovirusten yhteys tyypin 1 diabetekseen on paljon tutkittu aihe, mutta mitään varmaa tutkimusnäyttöä aiheesta ei ole vielä pystytty osoittamaan. Kirjoittamistani kuitenkin helpotti se, että olin ollut kesätoissa DIPPissä ja tiesin minkälaista heidän työnsä on. Tämä auttoi minua ymmärtämään minkälaista informaatiota he tarvitsevat enteroviruksista. Monet suomalaistutkimukset ja julkaisut perustuvat DIPP tutkimuksessa kerättyyn aineistoon. Näytteiden analysointi tapahtuu kuitenkin muualla, eivätkä uusimmat julkaistut tutkimustulokset päädy välttämättä työntekijöille asti. Opinnäytetyöni tavoitteena onkin lisätä DIPPissä työskentelevien työntekijöiden tietoutta enteroviruksista.

Jatkoin raportti osuuden kirjoittamista tammi- ja helmikuun ajan, jonka jälkeen työni keskeytyi kansainvälisen opiskelijavaihdon takia. Palattuani Suomeen, jatkoin raporttiosuuden kirjoittamista aina elokuun loppuun asti. Työskennellessäni DIPP-tutkimuksessa kesän 2013, jolloin kävin työntekijöiden kanssa keskustelua opinnäytetyöni etenemisestä. Lisäksi kävin näyttämässä Mia Nyblomille työtäni

elokuussa, jolloin hän vielä antoi parannusehdotuksia. Lopullinen opinnäytetyö valmistui syyskuun lopulla 2013.

9.2 Opinnäytetyön tuotos

Opinnäytetuotoksen valinta tuotti ongelmia. Työelämäedustajan kanssa pohdittiin mistä olisi eniten hyötyä työntekijöille tulevaisuudessakin. Lopulta päädyttiin, että Power Point -esitys olisi tähän tilanteeseen sopivin tuotos. Työntekijät voivat myöhemminkin käyttää sitä, esimerkiksi uuden työntekijän perehdyttämiseen. Diaesitykseen on kasattu tärkeimmät pääkohdat raporttiosuudesta. Tuotos valmistui elokuussa 2013 raporttiosuuden jälkeen.

Power Point on tehty Microsoft Office Power Point 2010 -ohjelmistolla. Power Pointin ensimmäisessä diassa on DIPP-tutkimukseen kuuluvan oravan kuva, joka toimii tutkimuksen symbolina/logona. Diasarjassa on 41 diaa ja 10 kuvaa. Kahdessa ensimmäisessä diassa käsitellään esityksen sisältöä. Esitys alkaa loogisesti diabeteksen taustaa käsittelevällä osiolla. Kuulijan huomion herättämiseksi ensimmäisissä dioissa on esitetty tilastoja taudin sairastavuudesta. Seuraavaksi esityksessä on käsitellään taudin geneettisiä- ja ympäristötekijöitä. Eri ympäristötekijät, kuten maito, lihavuus ja D-vitamiini ovat jaettuina omiin alaotsikoihin. Työ etenee riskitekijöistä autovasta-aineisiin. Esityksessä käsitellään kaikki viisi mitattavissa olevaa autovasta-ainetta (ICA, GAD, IAA, IA-2 sekä ZnT8). Vasta-aineiden määrittämisestä on myös kaksi diaa, joista toiseen on liitetty havainnollistava kuva.

Diossa käsitellään enteroviruksen aiheuttamia tavallisia infektioita sekä viruksen rakennetta pintapuolisesti. Esityksessä seuraavat 16 diaa keskittyvät enteroviruksen patogeenisiin ja eri eläinlajeihin. RIP-LCMV-eläinlajia on käsitelty viidessä eri diassa. Mukana on myös neljä aiheeseen liittyvää kuvaa. Kuvissa on havainnollistettu patogeenin eri vaiheita. Esityksessä on myös kerrottu tavallisesta NOD-hiiri kokeesta ja aiheeseen on liitetty yksi kuva. T-solujen ja enteroviruksen roolia taudin kulussa on kuvattu viidessä diassa ja kahdessa kuvassa. Lopussa on vielä esitetty hygienia- ja poliohypoteesit, jotka selittävät omalla tavallaan diabeteksen puhkeamista. Työn viimeiset kaksi diaa pohtivat tulevaisuuden näkymiä, eli mahdollisia taudin ehkäisykeinoja ja siihen liittyviä haasteita.

Otsikoissa fonttikoko on 32 ja tekstin kirjaisinkoko vaihtelee tekstin tärkeyden mukaan (20-24). Tekstin kirjoittamiseen käytin Times New Roman tekstityyliä. Pyrin käyttämään lyhyitä lauseita ja ilmaisuja, jotta diat olisivat selkeitä. Näin kuulijan on helpompi seurata luennoitsijan puhetta. Kuvat ovat selkeitä ja tukevat dioissa olevaa tekstiä. Värimaailma on sinertävä ja tausta yksinkertaisen valkoinen. Musta teksti saa aikaan riittävän kontrastin, jolloin kohdeyleisön on helpompi erottaa teksti. Tuotosta ei julkaistu Theseuksessa, vaan se annetaan käyttöön Power Point -tiedostona DIPP-tutkimukseen, jolloin sen päivittäminen on myös helppoa.

10 POHDINTA

Opinnäytetyön aihe oli erittäin mielenkiintoinen ja motivaationi säilyi koko kirjoitusprosessin ajan. Haasteita opinnäytetyöprosessiin aiheutti tieteellisten artikkeleiden suuri määrä. Aluksi koin hankalaksi löytää luotettavia lähteitä ja tutkimusten ristiriitaisuus oli hämmentävää. Kirjoitusprosessin aikana opin olemaan lähdekriittisempi sekä tunnistamaan ominaisuuksiltaan hyvän tieteellisen julkaisun. Opinnäytetyöni oli aiheeltaan valtavan laaja ja jouduin tekemään paljon rajauksia. Enteroviruksen patogeenesi kappaleeseen olisin halunnut lisätä tutkimuksia, joita on tehty ihmisten haimoilla enterovirusten osoittamiseksi. Toisaalta kappaleen lisääminen olisi tuottanut merkittävistä lisää sivuja työhöni ja tehnyt opinnäytetyöstäni melko pitkän. Kokonaisuudessaan olen tyytyväinen työhöni ja työ antaa hyvät valmiudet tarkastella tulevaisuudessa yksittäistä asiaa syvällisemmin.

Opinnäytteen luotettavuutta lisää se, että olen käyttänyt teoriaosuudessa mahdollisimman luotettavia lähteitä sekä merkinnyt ne asianmukaisesti tekstiin. Opinnäytetyön teoriaosuus pohjautuu enimmäkseen englanninkielisiin julkaisuihin. Artikkeleita lukiessa pyrin kiinnittämään huomiota kirjoittajiin, artikkelin julkaisijaan ja julkaisuvuoteen. Esimerkiksi *The Lancet* ja *Diabetologia* ovat alan parhaimpia ja arvostetuimpia julkaisijoita. Enterovirukset tyypin 1 diabeteksen aiheuttajana on paljon tutkittu aihe, mutta varmoja tutkimustuloksia aiheesta ei ole vielä pystytty esittämään. Tämän takia pyrin käyttämään mahdollisimman uusia julkaisuja sekä tutkimuksia, jotka pohjautuisivat DIPP-tutkimus aineistoon.

Valtaosa käyttämistäni lähteistä on 2000-luvulta, mutta olen myös käyttänyt muutamaa vanhempaa julkaisua. Perustelen vanhempien lähteiden käyttöä sillä, että ne ovat ensimmäisiä tutkimuksia, jotka todistavat esimerkiksi enterovirusten kausittaisen ilmaantumisen diabeetikkolapsilla. Myös NOD-hiirimalli luvussa käytin alkuperäistä lähdeä 1980-luvulta, sillä hiirtä käytetään sellaisenaan vielä tänäkin päivänä diabetestutkimuksessa. Joidenkin lukujen kirjoittamiseen jouduin käyttämään DIPP-tutkimuksen julkaisemaa tietoa lähdemateriaalina. Näiden lähteiden käyttö on mielestäni suotavaa tässä tilanteessa, sillä opinnäytetyö tehdään heidän tutkimukseensa ja lisäksi kyseisistä aiheista oli haasteellista saada tietoa kirjallisuudesta.

Opinnäytetyön luotettavuutta lisää se, että työelämän yhteishenkilö, ohjaavat opettajat ja alan ammattilaiset lukivat ja tarkastivat teoriaosuuden sekä antoivat niistä korjausehdotuksia. Luetutin raportin myös useammilla sellaisilla henkilöillä, joilla ei ole aikaisempaa tietämystä enterovirusista. Tein työhön tarvittavia muutoksia saadun palautteen perusteella. Näin varmistin, että teksti ei ole liian tieteellistä ja että olen avannut vaikeimmat asiat helposti ymmärrettäviksi.

Power Point- esityksen suunnittelin DIPP-tutkimuksen värimaailman ja tyylin mukaisesti. Kohdeyleisönä toimii DIPP-tutkimuksen laboratoriohoitajat, tutkimushoitajat sekä tutkimusavustajat. Pyrin kirjoittamaan diaesityksen tekstit siten, että kohdeyleisön olisi mahdollisimman helppo seurata esitystä. Käytin alan ammattisanastoa, mutta avasin myös tarkemmin harvinaisemmat termit selkeyden edistämiseksi. Power Pointissa keskityin tarkemmin enteroviruksen patogeneesiin, sillä se on hankalammin ymmärrettävin asia teoriaosuudessa. Pyrin käyttämään kuvia apuna asian selkeyttämiseksi ja mielenkiinnon lisäämiseksi. Esitin Power Point- esityksen pienelle kohdeyleisölle, jotka antoivat arvokasta palautetta ja parannusehdotuksia, esimerkiksi virkkeiden pituuteen liittyvistä seikoista.

Kirjasin tiukan aikataulun opinnäytetyön tekemiselle. Tarkoituksena oli saada luvat valmiiksi syksyn 2012 aikana, mutta todellisuudessa sain ne vasta joulukuussa. Tästä huolimatta olin jo aloittanut hahmottelemaan työn rakennetta ja aloitin kirjoitusprosessin joululoman aikana. Tavoitteena oli, että teoriaosuus valmistuisi ennen kesäkuuta 2013 ja tuotos oli tarkoitus valmistua elokuussa. Näiltä osin opinnäytetyö viivästyi huomattavasti. Elokussa sain vasta teoriaosuuden ensimmäisen version kommentoitavaksi. Syyskuun aikana jatkoin kirjoittamista ja teoriaosuus valmistui lopulliseen muotoonsa syyskuun puolivälissä 2013. Tuotos valmistui raportin jälkeen syyskuun loppuun mennessä.

Osa opinnäytetyössä käsiteltävistä aiheista oli minulle jo entuudestaan tuttuja, kuten vasta-aineet. Toisaalta onnistuin mielestäni syventämään tietouttani aiheesta. Sen sijaan enteroviruksen patogeneesistä en tiennyt kovinkaan paljoa. Erityisesti tästä osa-alueesta sain merkittävästi lisätietoa. Haastavaa oli tehdä opinnäytetyö yksin. Kun annoin muiden alan ammattilaisten lukea tekstejäni, sain arvokasta palautetta ja hyviä ideoita kuinka parantaa työtäni. Opinnäytetyöprosessin aikana kehityin ammatillisesti ja syvensin vuorovaikutus- ja yhteistyötaitojani.

Jatkotutkimusaiheiksi ehdotan enterovirusten roolia immunopatogeneesin eri vaiheissa. Tämä aihe kiinnostaa tutkijoita erityisesti. Enterovirusiin liittyvä aihe voisi olla myös kokeellinen. Esimerkiksi enterovirusinfektioiden määrä alle viisivuotiailla suomalaisilla diabeetikkolapsilla. Alle viisivuotiaiden lasten diabetestapausten määrä on ollut huimassa kasvussa ja tutkimustulokset ovat vielä ristiriitaisia. Myös muita ympäristötekijöitä voisi tarkastella lähemmin tyypin 1 diabeteksen aiheuttajana. Tällä hetkellä äidinmaidonkorvike liittyneenä suolen mikrobiflooraan, on yksi uusimmista tutkimusaiheista.

LÄHTEET

Airaksinen, E. & Komulainen, N. Esikoululaisten ruokailutilanteiden tukeminen-powerpoint esitys- esikoululaisten vanhemmille ja varhaiskasvatuksen henkilökunnalle. Terveystieteiden tutkimuskeskuksen kehittämissuunnitelma. Hoitotyön koulutusohjelma. Hämeen ammattikorkeakoulu.

Arif, S., Tree, T., Astill, T., Tremble, J., Bishop, A., Dayan, A., Roep, B. & Peakman, M. 2004. Autoreactive T cell responses show proinflammatory polarization in diabetes but a regulatory phenotype in health. *Journal of Clinical Invest* 113 (3) 451-463.

Bamford, D., Hyypiä, T. & Saksela, K. 2010. Virusten luokittelu. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A. & Meri, S. *Mikrobiologia*. 1. PAINOS. Kustannus Oy Duodecim.

Bedard, K. & Semler, B. 2004. Regulation of picornavirus gene expression. *Microbes and Infection* 6 (7) 712-713.

Branum, A. & Lucas, S. 2009. Food allergy among children in the United States. *Pediatrics* 124 (6) 1549-1555.

Brilot, F., Jaidane, H., Geenen, V. & Hober 2008. Coxsackievirus B4 infection of murine foetal thymus organ cultures. *Journal of Medical Virology* 80 (4) 659-666.

Christen, U. & von Herrath, M. 1991. The Immunopathogenesis of Virus-Induced Type 1 Diabetes. Teoksessa Taylor, K., Hyöty, H., Toniolo, A. & Zukerman, A. *Viruses and Diabetes*. Springer.

Daneman, D. 2006. Type 1 Diabetes. *The Lancet* 367 (9513) 847-858.

Diabetesliitto. Tyypin 1 diabetes. Luettu 26.12.2012. http://www.diabetes.fi/diabetestietoa/tyyppi_1.

Di Lorenzo, T., Peakman, M. & Roep, B. 2007. Translation mini-review series on type 1 diabetes: Systematic analysis of T cell epitopes in autoimmune diabetes. *Clinical Experimental Immunology* 148 (1) 1-16.

DIPP-tutkimus. 2012. DIPP/TEDDY/TrialNet. Luettu 5.1.2013. <http://dipp.utu.fi>

DIPP-tutkimuksen kulku. 2012. DIPP-TUTKIMUS. Luettu 5.1.2013. <http://dipp.utu.fi>

Egger, D. & Bienz, K. 2005. Intracellular location and translocation of silent and active poliovirus replication complex. *Journal of General Virology* 86(3) 707-718.

Eichmann, M. & Peakman, M. 2013. The role of T Lymfocytes in the Pathogenesis of Autoimmune Type 1 Diabetes: Implications for potential Virus-Mediated Pathways. . Teoksessa Taylor, K., Hyöty, H., Toniolo, A. & Zukerman, A. *Viruses and Diabetes*. Springer.

Emamallee, J., Davis, J., Merani, S., Toso, C., Elliott, J., Thiesen, A. & Shapiro, A. 2009. Inhibition of Th1 cells regulates autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes* 58 (6) 1302-1311.

Fujinami, M., Herrath, R., Christen, U. & Whitton, L. 2006. Molecular mimicry, By-stander Activation, or Viral persistence: Infections and autoimmune disease. *Clinical Microbiology Reviews* 19 (1) 80-94.

Gamble, D. & Taylor, K. 1969. Seasonal Incidence of Diabetes Mellitus. *BMJ* 3 (5671) 631-633.

Haapaniemi, T. 2010. Enterovirusten detektio haimakudoksesta in situ –hybridisaatiolla ja immunofluoresenssiin perustuvalla kaksoisvärjäysmenetelmällä. Pro gradu-tutkielma. Bio- ja ympäristötieteiden laitos. Jyväskylän yliopisto.

Henttinen, S. 2013. Diagnosis of Breast Cancer. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Tampereen Ammattikorkeakoulu. Vaihtoehtoisten ammattiopintojen kirjallintyö.

Hirvelä, E. 2009. Diabetes ja autovasta-aineet. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Pirkanmaan ammattikorkeakoulu. Vaihtoehtoisten ammattiopintojen kirjallintyö.

Hukkanen, V., Saksela, K. & Hyöty, H. 2010. Virusinfektioiden patogeenesi. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A. & Meri, S. *Mikrobiologia*, 1. painos. Kustannus Oy Duodecim.

Hyypiä, T., Roivanen, M. & Ruuskanen, O. 2010. Rakenne ja lisääntyminen. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A. & Meri, S. *Mikrobiologia*, 1. painos. Kustannus Oy Duodecim.

Hyöty, H. 2013. Enterovirus Immunity and the “Hygiene Hypothesis”. Teoksessa Taylor, K., Hyöty, H., Toniolo, A. & Zukerman, A. *Viruses and Diabetes*. Springer.

Hyöty, H. & Virtanen, S. 2004. Miksi tyypin 1 diabeteksen ilmaantuvuus on kasvanut Suomessa toisen maailmansodan jälkeen? *Lääketieteellinen Aikakausikirja Duodecim*. <http://www.duodecimlehti.fi>

Ilonen, J. 2004. Tyypin 1 diabetes ja geenit. *Lääketieteellinen Aikakausikirja Duodecim*. <http://www.duodecimlehti.fi>

Insel, R. 2013. Speculation on Prevention of type 1 Diabetes. Teoksessa Taylor, K., Hyöty, H., Toniolo, A. & Zukerman, A. *Viruses and Diabetes*. Springer.

Kallio, H. 2007. Uusi syy diabetekseen-virusia väärään aikaan. *Tiede* 4/2007. Luettu 1.8.2013. <http://www.tiede.fi>

Katpally, U. & Smith, T. 2007. Pocket factors are unlike to play major role in the life cycle of human rhinovirus. *Journal of Virology* 81 (12) 6307-6315.

Kesäkirje 2013. DIPP/TEDDY/TrialNet- työryhmä. 2013.

Knip, M., 2012. Diabetekseen liittyvien vasta-aineiden merkitys. Luettu 5.5.2013. <http://www.dipp.utu.fi>

- Knip, M. 2009. Diabeteksen autovasta-aineet ja niiden käyttö. *Moodi*. Labquality Oy (1) 79–80.
- Knip, M. 2004. Onko tyypin 1 diabetes autoimmuunisairaus ja voidaanko sen kehittymistä estää? *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* 120 (8) 1158-65.
- Knip, M., Virtanen, S. & Åkerlund, H. 2010. Infant feeding and the risk of type 1 diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition* 91 (5) 1506-1513.
- Knip, M., Virtanen, S., Seppä, K., Ilonen, J., Savilahti, E., Vaarala, O., Reunanen, A., Teramo, K., Hämäläinen, A., Paronen, Dosch, J., Hakulinen, H. & Åkerblom, H. 2010. Dietary Intervention in Infancy and Later Signs of Beta-Cell Autoimmunity. *The New England Journal of Medicine* 363 (20) 1900-1908.
- Knowles, N. 2011. Welcome to the home of Picornavirus. Luettu 30.7.2013. <http://www.picornaviridae.com>
- Jokiranta, S. & Seppälä, I. 2011. Vasta-aineen rakenteen ja toiminnan perusteet. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A. & Meri, S. *Immunologia*. 1. painos. Kustannus Oy Duodecim.
- Liuha, T. 2007. Tyypin 1 diabetes lisääntyy. Auttaako pidempi imetys? *Kansanterveys* 1/2007. s. 8-9.
- Lähde, A. 2013. Luuston rakennus alkaa jo lapsena. *Aamulehti* 269 (42838).
- Makino, S., Kunimoto, K., Muraoka, Y., Mizushima, Y., Katagiri, K. & Tochino, Y. 1980. Breeding of a non-obese, diabetic strain mice. *Jikken Dobutsu* 29 (1) 1-13.
- Making Power Point Slides. Avoiding pitfalls of bad slides. Luettu 10.8.2013 <http://www.iasted.org>.
- Manneri, T. 2011. Geenien kierre avautuu. *Diabetes* 8/2011.
- Manneri, T. 2008. Suolistossako sen salaisuus? *Diabetes-lehti* 12/2008.
- Manstrandea, L., Jihnhee, Y., Behrens, T., Buchlis, J., Albini, C., Fournier, S. & Quattrin, T. 2009. Etanercept treatment in children with new-onset-type1 diabetes. *Diabetes Care* 32 (7) 12244-1249.
- Miettinen, M., Reinert, L., Kinnunen, L., Harjutsalo, V., Koskela, P., Surcel, H.-M., Lamberg-Allardt, C. & Tuomilehto, J. 2012. Serum 25-hydroxyvitamin D level during early pregnancy and type 1 diabetes risk in the offspring. *Diabetologia* 55 (5) 1291-1294.
- Mustajoki, P. 2012. Diabetes (sokeritauti). *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim*. Luettu 26.12.2012. <http://www.terveyskirjasto.fi>
- Noble, J. & Erlich, H. 2012. Genetics of type 1 diabetes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2 (1) 1-7.

Norris, J., Barriga, K., Klingensmith, G., Hoffman, M., Eisenbrath, G., Erlich, H. & Rewers, M. 2003. Timing of Initial Cereal Exposure in Infancy and Risk of Islet Autoimmunity. *Jama* 290 (13) 1713-1720.

Nyblom, M. 2013. Asiantuntijan (vastaavan laboratoriohoitaja) tiedonanto. 1.8.2013.

Ohashi, P., Oehen, S., Buerki, K., Pircher, H., Ohashi, C., Odermatt, B., Malissen, B., Zinkernagel, R. & Hengartner, H. 1991. Ablation of "tolerance" and induction of diabetes by virus infection in viral antigen transgenic mouse. *Cell Press* 65 (2) 305-317.

Oikarinen, S., Martiskainen, M., Tauriainen, S., Huhtala, H., Ilonen, J., Veijola, R., Simell, O., Knip, M. & Hyöty, H. 2011. Enterovirus RNA in blood is linked to the development of type 1 diabetes. *Diabetes* 60 (1) 276-279.

Oldstone, M., Nerenberg, M., Southern, P., Price, J. & Lewicki, H. 1991. Virus infection triggers insulin-dependent diabetes mellitus in transgenic model: role of anti-self (virus) immune response. *Cell Press* 65 (2) 319-331.

Palmenberg, A. 1982. In vitro synthesis and assembly of picornaviral capsid intermediate structures. *Journal of Virology* 44 (3) 900-906.

Pandey, K., Sharma, P., Garg, V & Mondal, S. 2011. A review on role of autoantibodies (GAD 65 IA-2) in type 1 diabetes. *International Journal of Comprehensive Pharmacy* 2 (5) 1-5.

Patterson, C., Dahlquist, G., Gyürüs, E., Green, A., Soltész, G. & the EURODIAB Study Group. 2009. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–20: a multicentre prospective registration study. *The Lancet* 373 (9680) 2027-2033.

Peltola, V. 2008. Enterovirusinfektiot Suomessa ja muualla maailmassa. *Lääkärilehti Duodecim* 124 1691-1692.

Peltonen, P. 2010. Enterovirusinfektioiden esiintyminen suomalaisilla lapsilla taustaväestössä vuosina 1996-2007. Syventävien opintojen kirjallinen työ. Lääketieteen laitos. Tampereen yliopisto.

Racaniello, V. 2007. Picornaviridae: The Viruses and Their Replication. Teoksessa Knipe, D. & Howley, P. *Fields Virology*. 5. painos. Wolters Kluwer.

Reijonen, H., Ilonen, J. & Knip, M. 1994. Geenien osuus tyyppin 1 diabeteksessä. Lääketieteellinen Aikakauskirja *Duodecim*. Luettu 26.12.2012.
<http://www.duodecimlehti.fi>

Reop., B. 2003. The role of T-cells in pathogenesis of type 1 diabetes: From cause to cure. *Diabetologia* 46 (3) 305-321.

Roivanen, M. 2006. Enteroviruses: New findings on the role of enteroviruses in type 1 diabetes. *The International Journal Biochemistry & cell Biology* 38 (5-6) 721-725.

Rossmann, M., He, Y. & Kuhn, R. 2002. Picornavirus-receptor interaction. *Trends in Microbiology* 10 (7) 324-331.

Rostela, T. 2011. Enterovirusinfektiot lapsilla ja infektioiden yhteys tyypin 1 diabetekseen. Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma. Turun ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö.

Sadeharju, K., Knipp, M., Virtanen, S., Savilahti, E., Tauriainen, S., Koskela, P., Åkerblom, H., Hyöty, H. and the Finnish TRIGR Study Group. 2007. Maternal Antibodies in Breast Milk Protect the Child from Enterovirus Infection. *Pediatrics* 119 (5) 941-946.

Saraheimo, M. 2011. Tyypin 1 diabetes. Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim. Luettu 26.12.2012. <http://www.terveyskirjasto.fi>

Saraheimo, M. 2009. Mitä diabetes on? Teoksessa Ilanne-Parikka, P., Rönönenmaa, T., Saha, M. & Sane, T. Diabetes. 6. painos. Kustannus Oy Duodecim.

Seiskari, T., Viskari, H., Kodrashova, A., Haapala, A., Ilonen, J., Knip, M. & Hyöty, H. 2010. Co-occurrence of allergic sensitization and type 1 diabetes. *Ann Med* 42(5) 352-359.

Taylor, K. 2013. Epidemiology of Viruses in Type 1 Diabetes: Seasonal Incidence, Family Studies, Clustering. Teoksessa Taylor, K., Hyöty, H., Toniolo, A. & Zukerman, A. Viruses and Diabetes. Springer.

Terveyden- ja hyvinvoinninlaitos. 2013. Ravitsemus saattaa vaikuttaa tyypin 1 diabeteksen riskiin. Luettu 2.3.2013. <http://www.thl.fi>

The RIP-LCMV Model for Type 1 Diabetes. Goethe University Frankfurt am Main. Luettu 12.8.2013.

Triolo, T., Armstrong, T., McFann, K., Yu, L., Rewers, M., Klingensmith, G., Eisenbarth, G. & Barker J. 2011. Additional autoimmune disease found in 33% of patients at type 1 diabetes onset. American Diabetes Association, *Diabetes Care* 34 (5) 1211-1213.

Uusitalo, L., Niinistö, S. & Virtanen, S. 2013. Ravinnon merkitys tyypin 1 diabeteksen kehittämisessä. *Suomen Lääkärilehti* 12/2013 923-928.

Vaarala, O., Ilonen, J., Ruohtula, T., Pesola, J., Virtanen, SM., Härkönen, T., Koski, M., Kallioinen, H., Tossavainen, O., Poussa, T., Järvenpää, AL., Komulainen, J., Lounamaa, R., Akerblom, HK. & Knip, M. 2012. Removal of bovine Insulin Cow's Milk Formula and Early Initiation of beta-Cell Autoimmunity in the FINDIA pilot Study. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine* 166 (7) 608-614.

Veijola, R. 2004. Tyypin 1 diabeteksen periytyvyydestä tiedetään melko paljon. *Kansanterveyslehti* 3/2004 s. 4-5.

Vilka, T. & Airaksinen, H. 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. 1-2 painos. Helsinki: Tammi.

ViralZone. Swiss Institute of Bioinformatics. Luettu 12.7.2013. <http://viralzone.expasy.org>

Virtanen, S. & Knip, M. 2003. Nutritional risk predictors of β cell autoimmunity and type 1 diabetes at a young age. *American Journal of Clinical Nutrition* 78 (6) 1053-1067.

Virtanen, S., Läärä, E., Hyppönen, E., Reijonen, H., Räsänen, L., Aro, A., Knip, M., Ilonen, J., Åkerblom, H. & the Childhood Diabetes in Finland Study Group. 2000. Cow's Milk Consumption, HLA-DQB1 Genotype, and Type 1 Diabetes: A Nested Case-Control Study of Siblings of Children With Diabetes. *Diabetes* 49 (6) 912-917.

Virtanen, S., Roivainen, M., Andersson, M., Ylipaasto, P., Hoornstra, D., Mikkola, R. & Salkinoja-Salonenn, M. 2008. In vitro toxicity of cereulide on porcine pancreatic Langerhans islets. *Toxicon* 51 (6) 1029-1037.F

Virtanen, S., Takkinen, H., Nevalainen, J., Kronberg-Kippila, C., Salmenhaara, M., Uusitalo, L., Kenward, M., Erkkola, M., Veijola, R., Simell, O., Ilonen, J. and Knip, M. 2011. Early introduction of root vegetables in infancy associated with advanced β -cell autoimmunity in young children with human leukocyte antigen-conferred susceptibility to Type 1 diabetes. *Diabetic Medicine* 28 (8) 965-971.

Viskari, H., Koskela, P., Lonrot, M., Luonuansuu, S., Reunanen, A., Baer, M. & Hyöty, H. 2000. Can enterovirus infections explain the increasing incidence of type 1 diabetes? *Diabetes Care* 23(3) 414-416.

Viskari, H., Ludvigsson, J., Uibo, R., Salur, L., Marciulionyte, D., Hermann, R., Soltesz, G., Fuchtenbusch, M., Ziegler, A., Kondrashova, A., Rommanov, A., Kaplan, B., Laron, Z., Koskela, P., Vesikari, T., Huhtala, H., Knip, M. & Hyöty, H. 2005. Relationship between the incidence of type 1 diabetes and maternal enterovirus antibodies: time trends and geographical variation *Diabetologia* 48(7) 1280-1287.

Virus Taxonomy. 2012. International Committee on Taxonomy of Viruses. Luettu 23.5.2013. <http://www.ictvonline.org>

Willcox, A., Richardson, S., Bone, A., Foulis, A., Morgan, N. 2009. Analysis of islet inflammation in human type 1 diabetes. *Clinical and Experimental Immunology* 155 (2) 173-181.

Wu, J. 2013. ZnT8 (Slc30A8) is a new antigenic target in type 1 diabetes. Beta Cell Biology Consortium. Luettu 30.7.2013. <http://www.betacell.org>

Yeung, W., Rawlinson, W. & Craig, W. 2011. Enterovirus infection and type 1 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of observational molecular studies. *BMJ* 342 1-9.

Zinkernagel, R. 2001. Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases. *New England Journal of Medicine* 345 (18) 1331-1335.

Åkerblom, H., Virtanen, S., Ilonen, J., Savilahti, E., Vaarala, O., Reunanen, A., Teramo, K., Hämäläinen, A-M., Paronen, J. & National TRIGR Study Groups. 2005. Dietary manipulation of beta cell autoimmunity in infants at increased risk of type 1 diabetes: a pilot study. *Diabetologia* 48 (5) 829-837.