

Maria Korventausta

Rinovirusetiologian vaikutus valkosolustimuloitujen TLR3- ja TLR7/8-agonistien sytokiinivasteisiin ensimmäisen vinkukohtauksen aikana

Syventävien opintojen kirjallinen työ

Turun yliopisto, Lääketieteellinen tiedekunta

Kevätlukukausi 2021

Maria Korventausta

Rinovirusetiologian vaikutus valkosolustimuloitujen TLR3- ja TLR7/8-agonistien sytokiinivasteisiin ensimmäisen vinkukohtauksen aikana

Lastentautioppi

Kevätlukukausi 2021

Vastuhenkilö: Tuomas Jartti

TURUN YLIOPISTO  
Lääketieteellinen tiedekunta

Korventausta, Maria: Rinovirusetiologian vaikutus valkosolustimuloitujen TLR3- ja TLR7/8-agonistien sytokiinivasteisiin ensimmäisen vinkukohtauksen aikana.

Syventävien opintojen kirjallinen työ, 34 s.  
Lastentautioppi  
Huhtikuu 2021

---

Hengitystieinfektiot ovat lapsilla erittäin yleisiä, ja joskus hengitystieinfektion seurauksena voi etenkin nuorilla imeväisillä ilmetä uloshengitysvaikeutta eli obstruktiota. Osalla obstruktio jää kertaluontoiseksi, mutta osalla uloshengitysvaikeustaipumus jatkuu. Hengitystieinfektioita aiheuttavista viruksista etenkin rinoviruksen ja respiratory syncytial-viruksen on havaittu aiheuttavan obstruktiivisia tautitiloja. Tutkimuksissa on havaittu rinoviruksesta aiheutuvan hengitystieinfektion aiheuttavan obstruktiota etenkin lapsille, joilla on tunnettuja astman riskitekijöitä, kuten atopiaa, herkistymistä allergeeneille tai hengitysvaikeuden jatkuminen tai alkaminen toisen ikävuoden aikana.

Tässä tutkielmassa tarkoituksena on analysoida Vinku2-tutkimusdatasta 3-23 kuukauden ikäisten ensimmäistä kertaa uloshengitysvaikeudesta kärsivien lasten valkosolunäytteiden tulehdusvälittäjäaineiden pitoisuuksia TLR3- ja TLR7/8-agonisteilla stimuloituista näytteistä. Tarkoituksena on keskittyä rinoviruksesta aiheutuneiden obstruktiivisten tautitilojen ja ei-rinoviruksesta aiheutuneiden obstruktiivisten tautitilojen välisiin eroihin.

TLR3-agonististimuloitujen näytteiden analyyseissä erityisesti IL-12P70-pitoisuuksissa havaittiin eroja riippuen virusetiologiaan sekä aiempaan aeroallergeeniherkistymiseen kuin myös astman kehittymiseen. Aiempi rinoviruspotilaan atopian ja aeroallergeeniherkistymisen havaittiin vaikuttavan myös IL-17A-pitoisuuksia laskevasti.

TLR7/8-agonististimuloituissa näytteissä rinovirusetiologialla havaittiin Eotaxin-2-pitoisuuksia nostava yhteys, sekä liittyvän myös taudin uusiutumiseen. Rinovirusetiologialla havaittiin myös yhteys sekä akuutin sairauden että kahden viikon seurantanäytteiden korkeampiin IFN- $\alpha$ 2-pitoisuuksiin.

Tutkielmassa havaitaan virusetiologialla olevan yhteys valkosolustimuloitujen TLR3- ja TLR7/8-agonistien sytokiinivasteisiin ensimmäisen vinkukohtauksen aikana, mutta aiheesta tarvitaan vielä lisää tutkimusta, jotta voidaan tarkemmin ymmärtää ja erottaa obstruktiiviset tautitilat toisistaan.

AVAINSANAT: rinovirus, bronkioliitti, sytokiini, TLR3, TLR7/8

## SISÄLLYS

<b>1. JOHDANTO</b> .....	<b>1</b>
1.1. LASTEN HENGITYSTIEINFEKTIOT .....	1
1.2. BRONKIOLIITIN PATOGENEESI.....	2
1.2.1. Yleistä pikkuvauvan immuniteetistä.....	3
1.2.2. Immuniteetti ja toll-like -reseptorit.....	5
1.2.3. Rinovirus- ja RS-virusbronkioliitin patogeneesi.....	7
1.3. TAVOITE .....	8
1.4. HYPOTEESI .....	8
<b>2. AINEISTO JA MENETELMÄT</b> .....	<b>9</b>
2.1. TUTKITTAVAT HENKILÖT .....	9
2.2. TUTKIMUKSEN KULKU .....	9
2.3. INTERVENTIO.....	9
2.4. TÄRKEIMMÄT SEURANTAMUUTTUUJAT .....	10
2.5. LABORATORIOMENETELMÄT .....	10
2.6. STATISTIIKKA .....	11
<b>3. TULOKSET</b> .....	<b>11</b>
3.1. TUTKIMUSPOPULAATIO.....	11
3.2. POTILAIDEN OMINAISPIIRTEET .....	14
3.3. EROT TLR-STIMULAATIOVASTEISSA AKUUTISSA VAIHEESSA .....	15
3.4. EROT TLR-STIMULAATIOVASTEISSA 2 VIIKKOA MYÖHEMMIN.....	20
3.5. TLR-VASTEIDEN KORRELAATIO KLIINISEEN TAUDINKULKUUN .....	29
<b>4. POHDINTA</b> .....	<b>31</b>
4.1 PÄATELMÄ.....	33
<b>LÄHTEET</b> .....	<b>34</b>

## 1. JOHDANTO

### 1.1. Lasten hengitystieinfektiot

Lapset sairastavat tyypillisesti vuosittain useamman hengitystieinfektion eli flunssan. Usein hengitystieinfektio painottuu ylähengitysteihin aiheuttaen esimerkiksi nuhaa, nenäntukkoisuutta, kurkkukipua ja kuumetta. Yleensä tauti rajoittuu itsestään, mutta joskus se komplisoituu. Yleisin hengitystieinfektion komplikaatio on akuutti välikorvantulehdus. Hengitystieinfektion leviäminen alempiin hengitysteihin on myös lapsilla yleinen flunssan komplikaatio. Alahengitysteihin levitessään virusinfektio voi aiheuttaa mm. laryngiittia, akuuttia bronkiittia, bronkioliittia, obstruktiivista bronkiittia sekä pneumoniam.

Yleisimpiä hengitystieinfektioita aiheuttavia viruksia ovat rinovirus, *Respiratory syncytial* -virus (RS-virus), parainfluenssavirukset, metapneumovirukset ja influenssavirukset. Vaikka kaikki flunssaa aiheuttavat virukset voivat aiheuttaa hyvin samankaltaisen taudinkuvan, on silti eri viruksilla taipumus aiheuttaa erilaisia alahengitystieinfektioita.<sup>1</sup>

Lasten infektion laukaisemia uloshengitysvaikeuksia kuvataan eri termein. Rajanveto eri obstruktiivisten tautitilojen, bronkioliitin, obstruktiivisen bronkiitin ja astman, välillä on liukuvaa. Bronkioliitiksi tyypillisesti Suomessa on kutsuttu alle 12 kuukauden ikäisen lapsen ensimmäistä uloshengitysvaikeusepisodia. Suomessa obstruktiiviseksi bronkiitiksi on kutsuttu 12-36 kuukauden ikäisen lapsen virusinfektion laukaisemaa uloshengitysvaikeutta. Astmadiagnoosia voidaan harkita, mikäli taipumus uloshengitysvaikeuksiin jatkuu.<sup>2</sup>

Nykyisin tarkempi uloshengitysvaikeuden diagnoosin termin valinta tehdään lähinnä potilaan iän, aiempien uloshengitysvaikeuksien sekä anamnestisten riskitekijöiden mukaan. On havaittu, että osalla lapsista infektion laukaisema uloshengitystievaikeus eli obstruktio jää kertaluontoiseksi, mutta osalla taipumus vinkumiselle toistuu.

Useissa tutkimuksissa on havaittu erilaisia riskitekijöitä, joiden avulla voidaan ennustaa lapset, joiden obstruktiotaipumus jatkuu yli 3-vuotiaaksi ja tällöin aletaan epäillä astmaa obstruktiotaipumuksen takana. Tunnettuja riskitekijöitä ovat vanhempien astma, lapsen oma atopia (atooppinen ekseema tai ruoka-aineallergia), varhainen herkistyminen allergeeneille, passiivinen

tupakointi ja hengitysvaikeuden alkaminen tai toistuminen toisen ikävuoden aikana. Jos lapsi on otettu rinoviruksen aiheuttaman hengitysvaikeuden takia sairaalaan, lapsuuden astman esiintyvyyden on havaittu olevan noin 10-kertainen verrattuna RS-viruksen aiheuttamaan hengitysvaikeuteen.<sup>3</sup> Lisäksi on havaittu, että geenin 17q21-kantajilla on suurempi riski sairastua astmaan kuin niillä, joilla ei ole tätä geeniä.<sup>4</sup> Suurella osalla, joilla ei näitä edellä mainittuja riskitekijöitä ole, on kyse väistyvästä obstruktiotaipumuksesta, joka ohittuu usein lapsen ja samalla lapsen keuhkoputkien läpimitan kasvun myötä sekä immuunipuolustuksen kehittymisen myötä.

Viimeisimpien tutkimusten mukaan bronkioliitin onkin diagnoosina esitetty koostuvan useammasta kuin yhdestä sairaustilasta. Kliinisesti, patofysiologisesti ja geneettisesti voidaan tunnistaa kolme eri potilasryhmää bronkioliittia tai ensimmäistä kertaa infektion yhteydessä vinkuvien lasten keskuudesta. Tästä johtuen bronkioliittidiagnoosin yläikärajaa on ehdotettu nostettavaksi kuudesta tai kahdestatoista kuukaudesta kahteen vuoteen.<sup>5</sup>

Suomalaisen astman Käypä hoito -suosituksen mukaan pikkulapsille (alle 3-vuotiaille) voidaan aloittaa hoitokokeilu astmalääkkeillä kliinisin perustein. Jos lapsella on ollut yhden vuoden aikana vähintään kolme lääkärin toteamaa hengityksen vinkunajaksoa, ja jos hänellä on havaittu astman riskitekijöitä, voidaan aloittaa säännöllinen anti-inflammatorinen hoitokokeilu. Niillä lapsilla, joilla näitä riskitekijöitä ei ole havaittu, jäädään vielä seuraamaan. Suurella osalla ei-allergisista lapsista, astmaoireet ohittuvat kasvun ja immuunipuolustuksen kehityksen myötä.<sup>6</sup>

## 1.2. Bronkioliitin patogeneesi

Eurooppalaisen käytännön mukaan bronkioliitilla tarkoitetaan alle vuoden ikäisen lapsen ensimmäistä uloshengitysvaikeusepisodia.<sup>7</sup> Bronkioliitti alkaa yleensä ylähengitystieinfektion oireilla ja leviää sitten alempiin hengitysteihin, johtaen keuhkoputkihaarojen, ja niitä ympäröivän keuhkokudoksen inflammaatioon.<sup>5</sup> Bronkioliitin tyypillinen kliininen löydös on hengitysvaikeus, ja erityisesti uloshengityksen vaikeutuminen. Uloshengitysvaikeudessa voidaan potilasta inspektoimalla havaita pidentynyt uloshengitys, uloshengityksen vinkuna sekä ilmatäytteen rintakehä ilmasalpauksen merkinä. Auskultaatiolöydöksenä voi olla uloshengityksen vinkunaa tai sisäänhengityksessä hienojakoista rahinaa.

Kansainvälisissä hoitosuosituksissa bronkioliitiksi kuvataan ensimmäistä uloshengitysvaikeuskohtaukseen johtavaa infektiota, mutta sen yläikäraja on vaihdellut eri

mantereiden hoitosuosituksissa. Euroopassa ja bronkioliitin yläikärajana on ollut 6-12kk, kun Yhdysvalloissa termiä on käytetty alle 2-vuotiaiden uloshengitysvaikeudesta.<sup>8</sup> Suomessa siis bronkioliitti-diagnoosin saaneilla lapsilla RS-virus on ollut yleisin aiheuttaja sen vuoksi, että pienillä imeväisillä RS-virus on tyypillisin aiheuttaja. Rajanveto obstruktiivisten tautitilojen välillä on siis liukuvaa ja on perustunut toistaiseksi pääosin potilaan ikään ja maan tai mantereiden hoitosuosituksiin.

Tärkein bronkioliittia aiheuttava virus on *Respiratory syncytial* -virus eli RS-virus. RS-virusta esiintyy Suomessa epidemioina tyypillisesti etenkin talvikuukausina. Bronkioliittia voi lisäksi aiheuttaa myös muut flunssaa aiheuttavat virukset, kuten rinovirukset, enterovirukset, metapneumovirukset ja parainfluenssavirus. 1-6 kuukauden ikäisillä lapsilla RS-virus on yleisin bronkioliitin aiheuttaja. Hieman vanhemmilla, n. 6-12 kuukauden ikäisillä lapsilla bronkioliitin aiheuttajina RS-virus ja rinovirus ovat yhtä yleisiä, ja yli 1-vuotiailla rinovirus dominoi. Suurimmalla osalla bronkioliitti on lievä, ja ohittuu oireenmukaisella hoidolla 1-2 viikossa eikä vaadi sairaalahoitoa.

### 1.2.1. Yleistä pikkuvauvan immunitetistä

Elimistön mikrobien vastainen puolustus voidaan karkeasti ottaen jakaa luontaiseen immunitettiin ja hankittuun immunitettiin, jotka toimivat yhteistyössä. Pikkuvauvat eivät ole lyhyen elinikänsä aikana usein ehtineet kohdata erilaisia taudinaiheuttajia, ja siten niiden immuunipuolustus erilaisia taudinaiheuttajia kohtaan on keskeneräinen. Tyypillisesti pikkulapset sairastelevatkin paljon kohdatessaan erilaisia taudinaiheuttajia ja kehittävät hankittua immuunipuolustusta näitä vastaan.

Synnynnäiselle eli luontaiselle immunitetille on tyypillistä sen nopeat ja samankaltaisina toistuvat reaktiot. Luontaiseen immuunijärjestelmään kuuluvia osia ovat mm. kudosten yleispuolustusmekanismit, kuten ihoa suojaavat epiteelit sekä limakalvot. Kudosten yleiset puolustusmekanismit ovatkin yleensä toimintakykyisiä jo pienillä lapsilla, ja elimistön fyysisten suojamuurien luontaiset immuunijärjestelmät aktivoituvat myös imeväisillä nopeasti taudinaiheuttajia kohdatessaan. Luontainen immunitetti kykenee tunnistamaan elimistölle vieraita toistokuvioita kuten bakteerien soluseinärakenteita ja lipopolysakkarideja sekä virusten osia, mutta näistä luontaisen immunitetin kohtaamisista ei jää elimistöön ns. muistijälkeä.

Opittu eli adaptiivinen immunitetti perustuu B-lymfosyyteistä kehittyneiden plasmasolujen tuottamiin vasta-ainesiin sekä T-lymfosyytteihin, joiden pinnalla T-solureseptorit tunnistavat

antigeenejä. Elimistön kohdatessa antigeenin ensimmäistä kertaa, vie sille spesifisen immuunivasteen muodostuminen 1-2 viikkoa, mutta seuraavalla kerralla reaktio tapahtuu jo voimakkaammin ja nopeammin. Elimistön kohtaamia vieraita rakenteita prosessoidaan mm. dendriittisoluisissa ja kuljetetaan imusuonia pitkin imukudoksiin, joissa ne esitellään lymfosyyteille. Lymfosyyttien seurauksena muodostuu antigeeneille spesifisiä vasta-aineita ja T-soluja. Kun vasta-aineet ja T-solureseptorit reagoivat kohderakenteiden kanssa, vapautuu sytokiineja jotka välittäjäaineina mm. aktivoivat tulehdussoluja ja komplementtijärjestelmää.<sup>9</sup>

Ensimmäisten elinkuukausien aikana pikkuvauvojen immuunipuolustusjärjestelmä perustuu vahvasti raskauden aikana istukanvälityksellä sikiölle siirtyneille vasta-aineille sillä immuunipuolustusjärjestelmä ei ole vielä kohdannut taudinaiheuttajia, joita vastaan hankittua immuunipuolustusta olisi voinut muodostua. Vastasyntyneen immuunipuolustus siis ennen rokotuksia riippuukin suuresti siitä, minkälaisia vasta-aineita äidiltä on siirtynyt ja minkälaisia vasta-ainepitoisuuksia äidillä on raskauden aikana ollut. Myös maternaalisia immuunisoluja siirtyy istukan kautta sikiöön.<sup>10</sup> On esitetty, että ensimmäiset kolme elinkuukautta on immuunipuolustuksen kehittymiselle kriittinen ajanjakso, ja sen aikaisilla ympäristön altisteilla voi olla pitkäaikaiset seuraukset immuunivälitteisille taudeille, kuten allergioille ja astmalle.<sup>11</sup> Tutkimuksissa on havaittu, että Th1-valkosolujen tuotantoa lisäävät sytokiinit, kuten interleukiini-12 (IL-12) kehittyvät pienille imeväisille melko hitaasti, vaikka elimistö kohtaisi viruksia, jotka toll-like reseptoreihin (TLR) sitoutumalla aiheuttavat tyypin I interferonien tuottoa.<sup>12</sup>

Tyypillisesti hengitystieinfektioissa synnynnäisen immuuniaktivaation seurauksen tuloksena tapahtuu nopeasti tyypin I/III interferonien (IFN) varhainen purkautuminen, jota seuraa sytokiini-induktio. Sytokiinit aktivoivat tulehdussolut, ja ketjureaktio johtaa lopulta epiteliaalisolujen inflammatoriseen vasteeseen sekä mukoosan ylituotantoon.

RS-viruksen aiheuttamaan bronkioliittiin sairastuu yleensä alle kuuden kuukauden ikäiset imeväiset, sekä alle 1-vuotiaat lapset, joilla on krooninen keuhko- tai sydänsairaus. Usein vain ensimmäinen RS-viruksen aiheuttama virusinfektio johtaa alahengitysteiden ärsytykseen ja vinkunaan, joka saattaa vaatia sairaalahoitoa. Pikkulasten immunitetti vahvistuu aina taudinaiheuttajia kohdatessaan, ja immuunipuolustus oppii puolustautumaan seuraavalla kerralla taudinaiheuttajaa vastaan tehokkaammin kuin ensimmäisellä kerralla, eikä RS-virusbronkioliitti tyypillisesti uusiudu.



### 1.2.2. Immunitetti ja toll-like -reseptorit

Elimistön immuunipuolustusjärjestelmä käyttää erilaisia puolustusmekanismeja kohdatessaan viruksen tai bakteerin. Elimistöllä on useita erilaisia fyysisiä suoja mekanismeja, joilla pyritään estämään vieraiden taudinaiheuttajien pääseminen elimistöön. Jos taudinaiheuttaja pääsee fyysisten suojamuurien ohi elimistöön, on seuraavaksi immuunipuolustusjärjestelmän tehtävänä tunnistaa taudinaiheuttaja.

Taudinaiheuttajien tunnistamiseen on käytössä erilaisia reseptoreita niin solujen sisällä kuin solujen ulkopuolellakin. Näitä kutsutaan termillä ”pattern recognition receptors”. Luontaiseen immunitettiin kuuluvia erityisesti taudin aiheuttajia tunnistavia reseptoreja ovat toll-like -reseptorit (TLR), joiden aktivaatio aloittaa luonnollisen immuunivasteen erilaisten signaalintireittien kautta.<sup>13</sup>

Toll-like -reseptoreja tunnetaan ihmisellä kymmenen eri tyyppiä. Näiden reseptorien tehtävänä on tunnistaa erilaisia taudinaiheuttajia. Viruksia tunnistavat toll-like -reseptorityypit TLR3, TLR7, TLR8 ja TLR9. Kun reseptori tunnistaa taudinaiheuttajan, aiheutuu siitä tyypin I interferonien (IFN) geeniaktivaatio ja tuotanto. Interferonit aktivoituessaan edelleen aktivoivat toisia geenejä, jotka pyrkivät rajoittamaan infektiota. Interferonit aktivoivat myös dendriittisoluja. Tyypin I interferonien on todettu olevan tärkein antiviraalinen sytokiini, mutta tärkeitä virusinfektioissa ovat myös tyypin II IL-6, tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), IL-12 ja IFN- $\gamma$ .<sup>9</sup>

Tärkeimpiä elimistön puolustussoluja ovat valkosolut: fagosyytit, dendriittisolut, lymfosyytit, sekä tulehdusreaktioita voimistavat basofiilit ja syöttösolut. Keholle vieraan materiaalin tunnistukseen osallistuu luontaisen immunitetin reseptoreja, erityisesti ns. toll-like -reseptorit, jotka ovat solukalvoproteiineja. Toll-like reseptorien tehtävänä on siis tunnistaa erilaisia mikrobeja, niiden rakennekomponentteja tai geneettistä materiaalia ja aktivoida soluja, jotta elimistö voisi puolustautua mikrobeja vastaan. Pääosa TLR-tyypeistä ilmentyy valkosoluissa, ja erityisesti makrofageissa sekä dendriittisoluuissa. Limakalvojen epiteeli- ja endoteelisolutyypit ilmentävät esimerkiksi TLR3-tyyppisiä. Eri TLR-tyyppien aktivoituminen johtaa hieman erilaiseen solun inflammatoriseen vasteeseen ja sytokiinivasteeseen, jonka seurauksena tulehdusvaste, antimikrobiset vasteet sekä sytokiinien ohjaama mikrobispesifinen immuunivaste ovat erilaisia. TLR3 on virusperäisen kaksoiskierre-RNA:n (dsRNA) tunnistusmolekyyli, joka toimii erityisesti intrasellulaarisesti endosomikalvostoilla. Sen on myös osoitettu tunnistavan dsRNA-virusten lisäksi ssRNA-viruksia sekä DNA-viruksia.<sup>14</sup> Näiden lisäksi TLR3 signaalintireitin voi stimuloida

synteettinen dsRNA-analogi poly(I:C). TLR3 on ainoa toll-like -reseptori, joka signaloi ainoastaan Interferoni- $\beta$ :aa indusoivan TIR-domain-containing adaptorin eli TRIF:n välityksellä.<sup>13</sup> TRIF-signalointireitti (TICAM-1) johtaa proinflammatoristen sytokiinien, kemokiinien sekä tyypin I ja tyypin III interferonien välityksellä NF- $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ -light-chain-enhancer of activated B cells) ja IRF3 (interferon regulatory factor 3) aktivaatioon.

TLR3-reseptoreja ilmentää luontaisen immuunijärjestelmän soluja kuten dendriittisolut ja makrofagit, kuten myös ei-immuunisolut, joista esimerkkinä epiteelisolut, luonnolliset tappajasolut (NK-solut) ja fibroblastit.<sup>13,15</sup> Neutrofiileissä ei ole TLR3-ilmentymistä ja T-soluissa on näiden ilmentymistä vain minimaalisesti. TLR3-signalointireitin riittämättömän toiminnan on havaittu altistavan erilaisten virustautien aiheuttamille komplikaatioille. TLR3 rs5743313/CT polymorfismin omaavilla lapsilla havaittiin mm. kohonnut pneumoniariski H1N1-pandemian aikana vuonna 2009.<sup>16</sup> Todennäköisesti TLR3/TRIF-signalointi hengitystieinfektion aikana liittyy sen rooliin tulehdusvälittäjäaineiden tuotannossa, mikä johtaa vahingoittuneeseen ilmatien mukoosaan.<sup>17</sup> Eläintutkimuksissa hiirillä on havaittu TLR3:n TRIF-signalointireitillä olevan merkittävä vaikutus hengitysteihin vaikuttavien virusten infektoissa, esimerkiksi rino- ja RS-virusinfektioissa.<sup>18</sup> Tämä todennäköisesti johtuu TRIF-signalointireitin immunopatologisiin reaktioihin sekä hyperinflammatoriseen vasteeseen.<sup>19</sup>

TLR7/8 on virusperäisen yksijuosteisen RNA:n (ssRNA) tunnistusmolekyyli. Nämä sijaitsevat intrasellulaarisesti ja tunnistavat endosytoosin kautta soluun tulevia viruksia. Se käyttää signalointireittinsä adapterina MyD88-proteiinia (myeloid differentiation primary response 88). MyD88-adapteria käyttää myös kaikki muut toll-like -reseptorit, lukuun ottamatta TLR3:a. MyD88-adapterin signalointireitti toimii solusta riippuen IRF7:n ja NF- $\kappa$ B:n kautta, joiden välityksellä vapautuu tyypin I ja III interferoneja sekä proinflammatorisia välittäjäaineita.<sup>14</sup> Ihmisillä TLR7:n on havaittu olevan tärkeä tyypin I interferonien tuotannossa plasmatsoidisissa dendriittisoluissa. TLR7 ilmentyy etenkin B-tyypin valkosoluissa ja monosyyteissä/makrofageissa. TLR8 ilmenee erityisesti monosyyteissä/makrofageissa sekä myeloidisissa dendriittisoluissa.

### 1.2.3. Rinovirus- ja RS-virusbronkioliitin patogeneesi

Nykykäsityksen mukaan voidaan siis tunnistaa kliinisesti, patofysiologisesti sekä geneettisesti kolme eri potilasryhmää potilaiden välillä, joilla on ensimmäinen uloshengitysvaikeuskohtaus. Bronkioliittiin johtava viruksen etiologia on tärkein potilasryhmien erottelija.<sup>5</sup> On todettu, että RS-virusten aiheuttamat hengitystieinfektiot aiheuttavat alahengitystieinfektioita etenkin hyvin nuorille lapsille, jolloin voidaan puhua RS-virusbronkioliitista. RS-virus voidaankin todeta jopa 80 %:lla alle 6 kk ikäisistä potilaista, jotka päätyvät bronkioliitin vuoksi sairaalahoitoon.<sup>20,21</sup>

RS-virus on vaipallinen yksijuosteinen RNA-virus, joka kuuluu paramyoksovirusten perheeseen. RS-viruksen aiheuttamassa uloshengitysvaikeudessa RS-virus aiheuttaa inflammaatiota pääosin vain pinnallisessa ilmäteiden epiteelisolukerroksessa. Koska nuorilla, tyypillisesti alle kuuden kuukauden ikäisillä imeväisillä, jotka RSV-bronkioliittiin sairastuu, on immuunipuolustus vielä keskeneräinen, aiheutuu hengitystie-epiteelin infektiosta liman muodostusta, joka tukkii pieniä hengitystiehyitä.<sup>22</sup> Tyypillisesti RS-bronkioliitti on taudinkuvaltaan lievä, mutta vakavan taudinkuvan riskitekijöitä ovat mm. keskisuus, krooniset keuhko- ja sydänsairaudet sekä alle 6 kk ikä.<sup>23</sup>

Elimistön mukoosan kohdatessa RS-viruksen, luonnollinen immuunipuolustus aktivoituu ja tuottaa tyypin I ja tyypin III antiviraalisia interferoneja. RS-virus kuitenkin pystyy ohittamaan tämän luonnollisen puolustuksen RSV-NS1/2 proteiinien avulla, jotka inhiboivat edellä mainittuja interferonivasteita inhiboimalla IRF-3:n ja STAT-2:n (signal transducer and activator of transcription 2) signalointireittejä. RSV-infektiot on yhdistetty kohonneeseen IL-17-tuotantoon, jonka esiintyminen saattaa johtaa vakavampaan taudinkuvaan.<sup>24</sup>

Rinovirukset ovat pikornavirusten perheeseen kuuluva virusryhmä, joka on vaipaton yksijuosteista RNA-virus. Rinovirukset aiheuttavat tyypillisesti uloshengitysvaikeuksia hieman vanhemmille lapsille. Näillä lapsilla, joilla rinovirus aiheuttaa obstruktiota, on tyypillisesti taipumusta atopiaan, herkistymistä erityisesti aeroallergeeneille, vaurioitunut ihon tai hengitysteiden epiteeli, heikentynyt keuhkofunktio tai vähentynyt interferonituotanto.<sup>25</sup>

Rinoviruksen aiheuttamassa uloshengitysvaikeudessa obstruktio aiheutuu hengitysteiden limakalvoturvotuksesta, hengitysteiden sileän lihakiston supistumisesta ja liman erityksen lisääntymisestä, mitkä taas johtuvat rinoviruksen infektoimien hengitysteiden epiteelisolujen

tulehduksesta. Tutkimusten mukaan atooppisen astman kehittymiseen ja vaikeampaan uloshengitysvaikeuden taudinkuvaan on yhdistetty etenkin rinoviruslajit A ja C. Rinovirus C-lajille on löydetty sille erityinen reseptori CDHR3 (cadherin related family member 3)<sup>26</sup> ja tämän reseptorin polymorfismi on yhdistetty kohonneeseen lapsuudenajan astmaan.<sup>10</sup> Rinovirusten on havaittu olevan ilmäteiden epiteelisolujen tyypin II luonnollisen immunitetin sytokiinien, kuten IL-25 ja IL-33 indusoijia, jotka edelleen vaikuttavat keuhkojen tyypin II immuunipuolustukseen IL-5 ja IL-13 sytokiinien kautta.<sup>5</sup> Tyypin I interferonit indusoivat mm. pikornaviruksissa proteiinikinaasi R:n ilmentymistä, jonka aktivaatio johtaa viruksen lisääntymisen estoon. Pikornavirusten ryhmään vaikuttaa myös tyypin I interferonien indusoima oligoadenyylaattisyntetaasi sen aktivoima RNAasi L, joka RNA:ta pilkkomalla vähentää viruksen replikaatiota.<sup>9</sup> Rinovirukset aiheuttavat solujen antiviraalisen IFN $\gamma$ -vasteen vähentymistä sekä lisää interleukiinien tuotantoa, joiden vaikutuksesta hankitun immunnipuolustuksen tyypin 2 auttaja-T-soluvaste eli Th2-soluvaste voimistuu.<sup>25</sup>

### 1.3. Tavoite

Tässä tutkielmassa on tarkoituksena vertailla Vinku2-aineistosta ensimmäisen uloshengitysvaikeusepisodin aikana päivystykseen hakeutuneiden lasten valkosolunäytteistä TLR3-agonististimulaatiolla sekä TLR7/8-agonististimulaatiolla määritellyjä sytokiinivasteita sekä alkuvaiheessa että kahden viikon seurantanäytteen kohdalla keskittyen erityisesti rinoviruspositiivisten näytteisiin sekä rinoviruspositiivisten ja rinovirusnegatiivisten näytteiden välisiin eroihin ja niiden liittymiseen potilasryhmien potilaisominaisuuksiin.

### 1.4. Hypoteesi

Hypoteesina on, että rinoviruspositiivisissa näytteissä sekä rinoviruksen suhteen negatiivisissa näytteissä näkyisi ero ainakin joidenkin TLR3- ja TLR7/8-agonististimuloitujen näytteiden sytokiinivasteissa. Aikaisemmin astmariskitekijöiden esiintymisen sekä RV-infektion on todettu olevan yhteydessä kohonneeseen IL-4, IL-6 ja IL-13 -tasoihin. Myös ilmatien epiteelisolujen IL-25 ja IL-33 sytokiineissa on havaittu vaste-eroja.

## 2. AINEISTO JA MENETELMÄT

### 2.1. Tutkittavat henkilöt

Vinku2-tutkimus toteutettiin Tyksin lastenlinikalla vuosina 2007-2009. Tutkimukseen otettiin mukaan 111 lasta, jotka olivat hakeutuneet Tyks päivystykseen oireenaan ensimmäinen uloshengitysvaikeusjakso. Tutkimukseen osallistuneet lapset ovat olleet ensimmäisen vinkukohtauksen aikana iältään 3-23 kuukauden ikäisiä ja syntyneet  $\geq 36$  raskausviikolla. Krooninen ei-atooppinen sairaus ja aikaisempi systeeminen kortikosteroidihoito sulki potilaan pois tutkimuksesta. Tutkittavilta otettiin näytteet tutkimukseen tulovaiheessa sekä kaksi viikkoa myöhemmin.<sup>27</sup>

### 2.2. Tutkimuksen kulku

Tutkimuksen alkuvaiheessa lapsille tehtiin kliininen tutkimus, otettiin nenänielunäytteet virusdiagnoosiin varten sekä otettiin laskimoverinäytteitä. Päivystysvuorossa oleva lääkäri teki päätöksen lapsen sopivuudesta tutkimukseen. Huoltajalle annettiin täytettäväksi lomake, joka sisälsi kysymyksiä mm. astman riskitekijöistä.<sup>27</sup>

Atopia määrittäminen: IgE-pitoisuus  $>0.35$  kU/L tai enemmän vähintään yhdelle seuraavista yleisistä allergeeneistä: turska, lehmänmaito, kananmuna, maapähkinä, soija, vilja, kissa, koira, hevonen, koivu, pujo, timotei, *Cladosporium herbarum* ja *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Aeroallergeeniherkistyminen määritettiin positiivisilla IgE-vasta-aineilla vähintään yhtä seuraavista allergeeneistä kohtaan: kissa, koira, hevonen, koivu, pujo, timotei, *Cladosporium herbarum* ja *Dermatophagoides pteronyssinus*.<sup>27</sup>

Ekseema määritettiin tyypillisten oireiden kuten kutinan, tyypillisen morfologian ja oireiden kroonisuuden perusteella. Ekseema määriteltiin atooppiseksi, jos potilaalta havaittiin ekseeman lisäksi allergeeniherkistymistä.<sup>27</sup>

### 2.3. Interventio

Tutkimuksen aikana rinoviruspositiiviset lapset, joilla oli päivystykseen tullessaan ensimmäinen uloshengitysvaikeus, randomoitiin saamaan kaksoissokkoutetusti joko suun kautta prednisolonia (ensimmäinen annos 2mg/kg, max. 60mg, sitten 2mg/kg/vrk, max. 60mg/vrk, kahteen jaettuun annokseen kolmen päivän ajan) tai lumelääkettä.

Alkuvaiheen näytteissä kaikki RV+ ja RV- -näytteet on otettu mukaan analyysiin. Kahden viikon kohdalla otetuista seurantanäytteistä analyysistä on jätetty pois ne näytteet, jotka ovat saaneet randomisoidussa tutkimuksessa prednisolonia.

#### 2.4. Tärkeimmät seurantamuuttujat

TLR3-stimuloidut akuutin sairauden aikana otetut valkosolunäytteet sekä kahden viikon kohdalla otetut valkosolunäytteet.

TLR7/8-stimuloidut akuutin sairauden aikana otetut valkosolunäytteet sekä kahden viikon kohdalla otetut valkosolunäytteet.

EGF, ENA-78, Eotaxin, Eotaxin-2, Eotaxin-3, FGF-2, Fractalkine, G-CSF, GM-CSF, I-309, IFN- $\alpha$ 2, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1RA, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12P40, IL-12P70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-20, IL-21, IL-23, IL-28, IL-33, IP-10, LIF, MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4, MDC, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MIP-1d, RANTES, sCD40L, SCF, SDF-1 $\alpha$ + $\beta$ , TARC, TGF- $\alpha$ , TNF $\alpha$ , TPO, TRAIL, TSLP ja VEGF.

#### 2.5. Laboratoriomenetelmät

Potilailta otetuista nenänielunäytteistä tehtiin virusanalyysit. Nenänielunäytteeseen kastettiin steriili vanupuikko (nylon flocced dry swab 520CS01, Copan, Brescia, Italy), ja kasteltu vanupuikko asetettiin kuivaan putkeen. Näytteet pakastettiin ja analysoitiin RV, RSV ja enterovirusia kohtaan kolmen vuorokauden sisällä. Tämän jälkeen näytteet säilöttiin -70°C odottamaan muiden virusten testausta. Rinovirus, Respiratory syncytial -virus, enterovirus, tyyppien 1-3 parainfluenssavirus, metapneumovirus, adenovirus, koronavirustyyppit 229E, NL63, OC43 ja HKU1 sekä influenssavirukset A ja B määriteltiin Multiplex-PCR:lla (Seeplex RV12 ACE Detection; Seegene, Seoul, Korea). Bokaviruksen analysointi tehtiin PCR-tutkimuksella ja akuutit infektiot varmistettiin serologisesti.<sup>27</sup>

Akuutin sairauden aikana perifeeriset mononukleaarisolut (PBMCs) eristettiin ja niitä stimuloitiin 24 tunnin ajan TLR3-agonistilla Poly I:C sekä TLR7/8-agonistilla CLO97. Poly(I:C) eli polyinosinic-polycytidylic acid on viraalisen dsRNA:n synteettinen analogi. Stimulaation jälkeen supernatantit kerättiin, varastoitiin -80°C ja myöhemmin analysoitiin Millipore HCYTOMAG-60K-36 ja HCYP2MAG-62K-20 assaylla (Merck, Darmstadt, Germany) multiplex ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) profilointia varten. Multiplex Elisa profilointi tehtiin 56:sta eri

sytokiinista (EGF, FGF-2, Eotaxin, TGF- $\alpha$ , G-CSF, GM-CSG, Fracktaline, IFN $\alpha$ 2, IFN $\gamma$ , IL-10, MCP-3, IL-12P40, MDC, IL-12P70, IL-13, IL-15, sCD40L, IL-17A, IL-1RA, IL-1 $\alpha$ , IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IP-10, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES, TNF $\alpha$ , VEGF, Eotaxin-2, MCP-2, MCP-4, I-309, IL-9, IL-16, TARC, Eotaxin-3, LIF, TPO, SCF, TSLP, IL-33, IL-20, IL-21, IL-23, TRAIL, SDF-1 $\alpha$ + $\beta$ , ENA-78, MIP-1d ja IL-28. Nenänielunäytteitä käytettiin virusdiagnoosiin PCR-tekniikan avulla ja seerumia käytettiin allergeenisien herkkyyden testaamiseen allergeenispesifisellä IgE:llä, johon kuului määritykset yleisistä allergeeneistä (Phadatiop Combi, Phadia, Uppsala, Sweden).

Multiplex ELISA -profiloinnista saadut tulokset kirjattiin ylös. Aineistosta aladetektorajan alle jäävät arvot (lower limit of quantification, LLOQ) eli OOR<-arvot muokattiin erillisen ohjeen mukaisesti sytokiini-kohtaisesti LLOQ (mediaani) /2 ja ylädetektorajan ylittävät arvot (upper limit of quantification, ULOQ) eli OOR>-arvot muokattiin sytokiini-kohtaisesti ULOQ (mediaani).

## 2.6. Statiikka

Rinoviruspositiivisten ja rinovirusnegatiivisten näytteiden sytokiini-vasteet analysoitiin käyttämällä epäparametriin ei-normaalijakautuneisiin analyysiin Wilcoxon rank sum testiä. Bivariaattisiin analyysiin käytettiin chi-square testiä. Ei-normaalijakautuneisiin muuttujat ilmoitetaan mediaaneina sekä 95% luottamusväleinä (confidence interval, CI95%) tai kvartiileina (interquartile ranges, IQR). P-arvo <0.05 arvioitiin tilastollisesti merkittäväksi. Jossain tapauksissa, kun arvo ei voinut olla negatiivinen, ja jos luottamusväli oli negatiivinen, se raportoitiin nolaksi. Datan analysointiin oli käytössä JMP Pro 14.

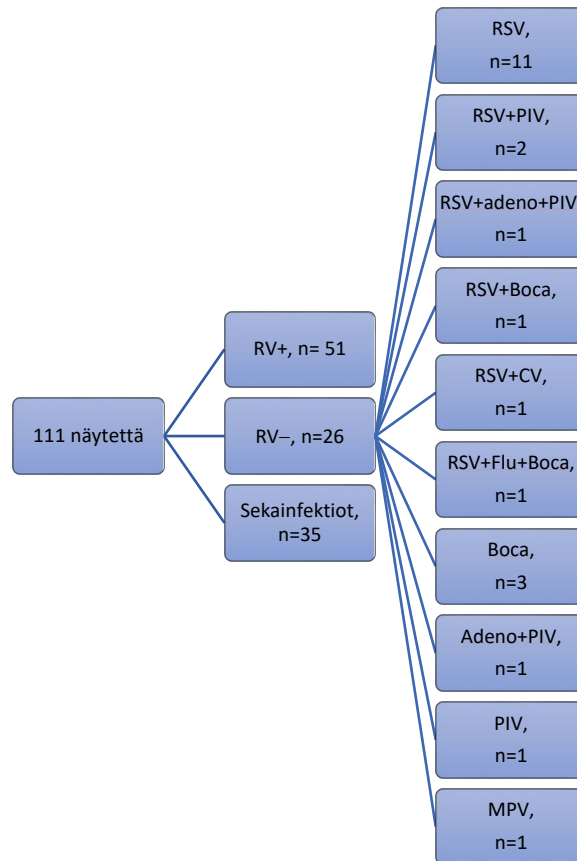
## 3. TULOKSET

### 3.1. Tutkimuspopulaatio

Alkuvaiheen eli akuutin sairauden aikana otettuja näytteitä, jotka PCR-analyysien mukaan olivat ainoastaan rinovirus-positiivisia, oli mukana 51 kappaletta. Akuutin sairauden aikaisista näytteistä PCR-analyysien mukaan rinovirus-suhteen negatiivisia näytteitä havaittiin 26 kappaletta. Näissä RV- -näytteissä virusetiologiana oli RSV (n=11), RSV+PIV (n=2), RSV+adeno+PIV (n=1), RSV+Boca (n=1), RSV+CV (n=2), RSV+Flu+Boca (n=1), Boca (n=3), Adeno+PIV (n=1), PIV (n=1) sekä MPV (n=1). Lisäksi tutkimusaineistossa oli mukana näytteitä,

jotka olivat PCR-analyysien mukaan virusetiologialtaan rinoviruksen suhteen positiivisia, mutta sisälsivät myös vähintään yhtä muuta virusta rinoviruksen lisäksi. Näitä sekainfektioita (n=34) ei otettu mukaan tähän analyysiin sekoittavan komponentin vuoksi. (kuva 1)

Kuva 1. Näytteiden virusetiologia.



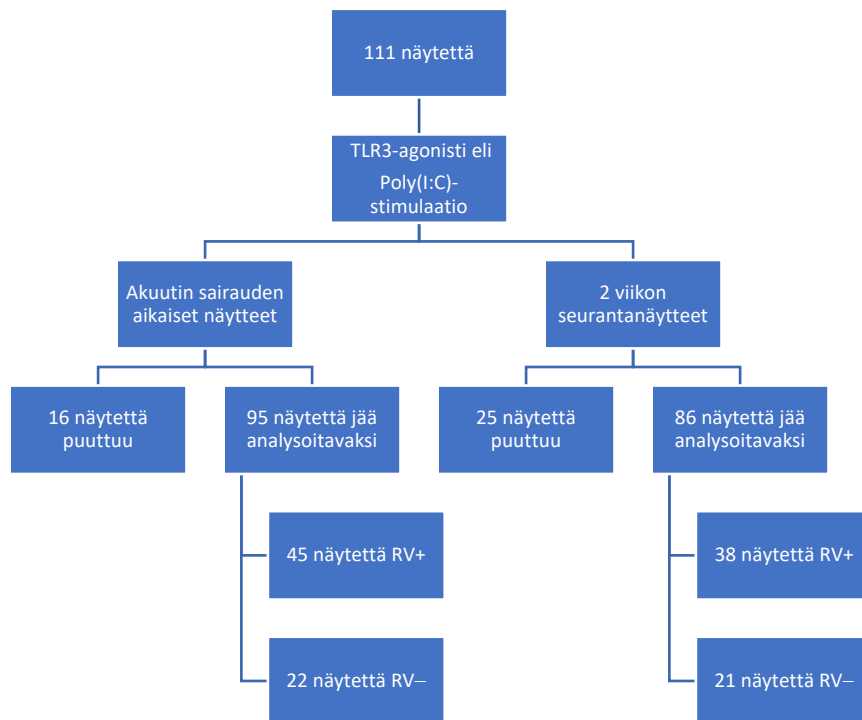
RV+, rinoviruksen suhteen positiiviset näytteet. RV-, rinoviruksen suhteen negatiiviset näytteet. Sekainfektiot ovat näytteitä, joissa on rinoviruksen lisäksi yhtä tai useampaa muuta virusta. RSV, respiratory syncytial virus. PIV, parainfluenssavirus. Adeno, adenovirus. Boca, bocavirus. CV, koronavirus. Flu, influenssavirus. MPV, metapneumovirus.

Näistä 51:sta vain rinoviruksen suhteen positiivisesta potilaasta (RV+) sekä TLR3-agonististimulaatioaineistossa että TLR7/8-agonististimulaatioaineistossa löytyy 45 näytettä.

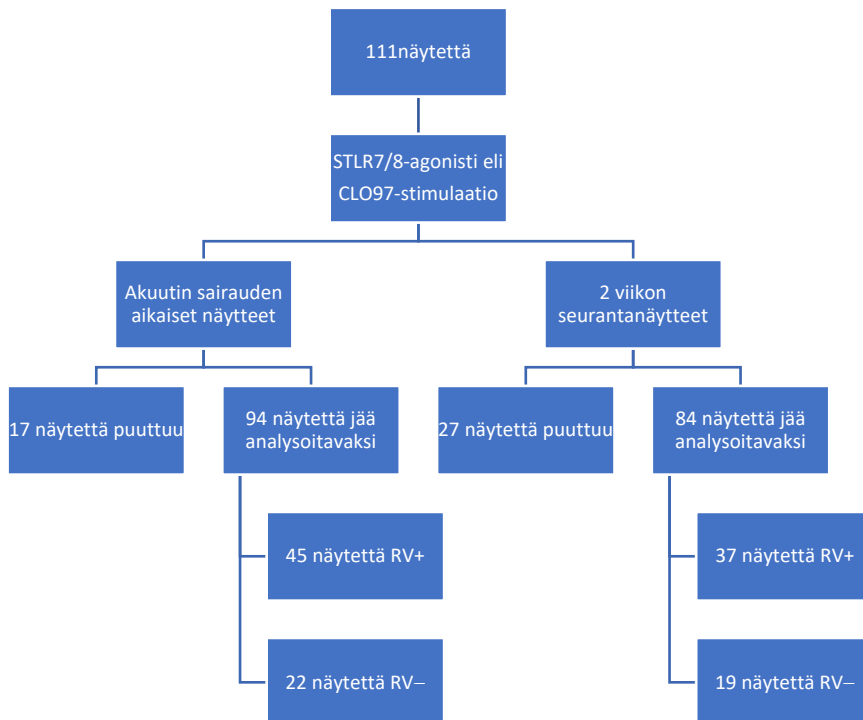
Rinoviruksen suhteen negatiivisista (RV-) 26 näytteestä alkuvaiheen TLR3-agonististimulaationäytteitä on 22 kpl ja alkuvaiheen TLR7/8-agonististimulaatioita 21kpl. (kuva 2, kuva 3)



Kuva 2. TLR3-agonisti Poly(I:C) stimulaatio.



Kuva 3. TLR7/8-agonisti CLO97 stimulaatio.



Lopullisen tutkittavan populaation muodostivat 51 rinoviruspositiivista (RV+) ja 26 rinovirusnegatiivista (RV-) lasta.

### 3.2. Potilaiden ominaispiirteet

Potilaat jaettiin uloshengitysvaikeuden viroetiologisen aiheuttajan mukaan kahteen ryhmään: rinoviruspositiivisten ryhmä (RV+) ja rinovirusnegatiivisten ryhmä (RV-) (taulukko 1). RV- -potilasryhmään kuuluivat mm. RS-virusbronkioliitit. Potilasryhmien välillä havaittiin RV+ -potilasryhmän olevan iältään vanhempia kuin RV- -potilasryhmän ( $p = .0013$ ). Rinovirusvinkujilla havaittiin myös vertailuryhmää enemmän atooppista ekseemaa ( $p = .030$ ) sekä erityisesti aeroallergeeniherkistymistä ( $p = .0024$ ). Lisäksi myös veren eosinofiilien ( $p < 0.0001$ ) ja kokonais-IgE-pitoisuuksien ( $p = .047$ ) havaittiin olevan korkeampia RV+ -ryhmällä. Tällä potilasryhmällä kahden kuukauden seurannassa esiintyi myös enemmän relapseja ( $p = .0004$ ) ja neljän vuoden seurannassa astmaa ( $p = .018$ ).

Taulukko 1. Potilaiden ominaispiirteet.

	RV+	RV-	<i>p</i> -arvo
Lukumäärä	51 (67%)	26 (34%)	
<b>Ikä (kk), mediaani, IQR</b>	<b>13.9 (9.0-17.0)</b>	<b>6.5 (5.3-12.5)</b>	<b>.0013</b>
<b>Paino (kg), mediaani, IQR</b>	<b>10.4 (8.9-12.0)</b>	<b>8.9 (7.6-12.1)</b>	<b>.0071</b>
Atopia (lkm)	16 (31%)	3 (13%)	0.78
<b>Ekseema (lkm)</b>	<b>11 (22%)</b>	<b>1 (4%)</b>	<b>.030</b>
<b>Atooppinen ekseema (lkm)</b>	<b>11 (22%)</b>	<b>1 (4%)</b>	<b>.030</b>
Allergeeniherkistyminen (lkm)	14 (28%)	3 (12%)	.12
Ruokaherkistyminen (lkm)	14 (28%)	3 (12%)	.12
<b>Aeroallergeeniherkistyminen (lkm)</b>	<b>10 (20%)</b>	<b>0 (0%)</b>	<b>.0024</b>
Vanhemman astma (lkm)	10 (19%)	2 (8%)	.14
Vanhemman allergia (lkm)	31 (60%)	10 (38%)	.074
<b>Vanhemman tupakointi (lkm)</b>	<b>25 (48%)</b>	<b>6 (23%)</b>	<b>.021</b>
Päivystykseen hakeutumisvaiheessa			
SpO2 (%), mediaani, IQR	97 (95-98)	98 (96-99)	.12
Lämpö (°C), mediaani, IQR	37.4 (37.0-37.7)	37.3 (36.9-38.6)	.54
Leukosyytit, mediaani, IQR	10.85 (8.5-13.4)	9.9 (8.0-11.6)	.16
Hb, mediaani, IQR	120 (114-125)	115 (108-126)	.27
<b>Eosinofiilit, mediaani, IQR</b>	<b>0.49 (0.33-0.71)</b>	<b>0.08 (0.06-0.20)</b>	<b>&lt;0.0001</b>
CRP, mediaani, IQR	13 (6-21)	3.5 (1-28)	.055
<b>Kokonais-IgE, mediaani, IQR</b>	<b>21 (7-48)</b>	<b>6 (2.5-39)</b>	<b>.047</b>
Seuranta			

<b>Relapsi 2kk seurannassa (lkm)</b>	<b>22 (46%)</b>	<b>2 (8%)</b>	<b>.0004</b>
Osasto/PLK (lkm)	40 (77%)	23 (88%)	.18
Osastohoidon kesto, mediaani, IQR	21 (16-29)	27 (17-43)	.23
<b>Astma 4 vuoden seurannassa (lkm)</b>	<b>18 (51%)</b>	<b>3 (19%)</b>	<b>.018</b>

RV+ rinoviruspositiiviset potilaat. RV- rinovirusnegatiiviset potilaat.

lkm, lukumäärä

osasto/PLK, osastohoito, polikliniinen seuranta

Jatkuvat muuttujat on ilmoitettu mediaaneina 25-75% kvartaaleilla (IQR) ja kategoriset muuttujat.

P-arvo <0.005 arvioitiin tilastollisesti merkittäväksi. Tilastollisesti merkittävät tulokset ovat tummennettuna.

Aineiston analysointiin käytettiin Wilcoxon rank sum testiä ja Chi square -testiä.

### 3.3. Erot TLR-stimulaatiovasteissa akuutissa vaiheessa

Ensimmäisen vinkukohtauksen aikana päivystykseen tulleilta lapsilta otettiin tulovaiheessa valkosolunäytteet, joista tehtiin sytokiinimäärityksiä TLR3-agonisti Poly(I:C):llä (taulukko 2) sekä TLR7/8-agonisti CLO97:lla (taulukko 3). Näytteet jaettiin virusetiologian perusteella kahteen eri ryhmään: RV+ ja RV-. Tulovaiheen, eli akuutin sairauden aikana otetuissa näytteissä sytokiinivasteita verrattiin RV+ ja RV- -ryhmien välillä.

TLR3-agonististimulaatioissa rinovirusbronkioliittipotilailla (RV+) havaittiin korkeampia SCF-pitoisuuksia (stem cell factor) kuin potilailla, joilla ei ollut rinovirusta (RV-) ( $p = .021$ ) sekä rinovirusnegatiivisia potilaita matalampia IL-3-pitoisuuksia ( $p = .033$ ).

Akuutin sairauden aikaisia näytteitä vertailtiin myös potilasryhmän sisällä (RV+ ja RV-) potilasominaisuuksien perusteella. Ei-atopikoilla rinoviruspotilailla havaittiin korkeampia pitoisuuksia atopikkoihin verrattuna sytokiineissä IL-13 (mediaani 6.24, IQR 2.7-55.11 vs. 1.58, 1.45-6.4,  $p = .032$ ), IL-17A (1.41, 1.41-8.33 vs. 1.41, 1.31-1.41,  $p = .045$ ), IL-5 (1.61, 0.31-7.66 vs. 0.49, 0.24-1.61,  $p = .034$ ), RANTES (349.19, 182.78-1084.21 vs. 173.2, 76.22-594.76,  $p = .048$ ). Kun verrattiin aeroallergeeniherkistymättömiä rinoviruspotilaita aeroallergeeniherkistyneisiin potilaisiin, havaittiin herkistymättömillä korkeampia pitoisuuksia sytokiineissä IL-12P70 (2.55-7.95 vs. 0.21-3.90,  $p = .047$ ), IL-17A (1.10-31.8 vs. 0.57-2.67,  $p = .027$ ) ja Eotaxin-3 (108-216 vs. 101-140,  $p = .033$ ).

Potilasominaisuuksien vaikutusta sytokiinivasteisiin tutkittiin myös rinoviruksen suhteen negatiiviselta potilasryhmältä. Atopikoita ja allergikkoja on tässä potilasryhmässä huomattavasti

pienempi osuus kuin RV+-potilasryhmässä. Atoopikoilla havaittiin korkeampia pitoisuuksia sytokiineissä TGF- $\alpha$  (2.81, 1.6-16.7 vs. 1.6, 1.45-1.6,  $p = .031$ ), IL-12P40 (94.43, 1.56-325.55 vs. 1.56, 1.56-1.56,  $p = .042$ ) sekä IL-7 (9.9, 4.48-15.3 vs. 1.94, 1.48-4.23,  $p = .021$ ) ja matalampia pitoisuuksia sytokiinissä IL-5 (0.26, 0.25-0.49 vs. 1.61, 0.93-12.37,  $p = .017$ ).

Taulukko 2. TLR3-agonisti Poly(I:C):llä stimuloitujen alkuvaiheen näytteet.

TLR3- AGONISTI, ALKU	RV+, N= 45, MED, (IQR)	RV-, N=22, MED, (IQR)	P-ARVO
EGF	2.36, (1.6 - 3.55)	3.07, (1.6 - 4.17)	$p = .32$
FGF-2	10.36, (10.36 - 10.36)	10.36, (10.36 - 10.70)	$p = .61$
EOTAXIN	1.62, (1.62 - 2.38)	1.62, (1.62 - 3.26)	$p = .34$
TGF- $\alpha$	1.6, (1.52 - 1.6)	1.6, (1.6 - 1.6)	$p = .51$
G-CSF	9.87, (8.85 - 15.68)	8.85, (8.85 - 121.33)	$p = .92$
GM-CSF	3.21, (1.59 - 25.98)	8.59, (1.59 - 210.95)	$p = .21$
FRACTALKINE	16.75, (8.25 - 27.18)	11.35, (8.25 - 20.45)	$p = .33$
IFN $\alpha$ 2	4.74, (1.46 - 9.88)	6.34, (1.46 - 19.03)	$p = .66$
IFN $\gamma$	2.69, (1.61 - 45.79)	10.71, (1.61 - 28.49)	$p = .41$
IL-10	10.01, (2.64 - 81.89)	31.85, (3.03 - 134.23)	$p = .54$
MCP-3	350.8, (71.44 - 390.51)	140.44, (29.49 - 390.51)	$p = .30$
IL-12P40	1.56, (1.56 - 2.36)	1.56, (1.56 - 36.50)	$p = .71$
MDC	137.23, (68.17 - 567.36)	146.63, (49.20 - 470.51)	$p = .74$
IL-12P70	1.62, (0.85 - 6.04)	1.62, (0.53 - 2.63)	$p = .26$
IL-13	4.77, (1.45 - 30.74)	3.96, (1.45 - 22.08)	$p = .88$
IL-15	1.55, (1.55 - 1.55)	1.55, (1.55 - 1.55)	$p = .34$
SCD40L	1.42, (1.42 - 6.26)	2.39, (1.42 - 6.76)	$p = .96$
IL-17A	1.41, (1.41 - 5.85)	1.41, (1.41 - 2.44)	$p = .70$
IL-1RA	47.22, (12.01 - 258.18)	50.29, (15.38 - 269.46)	$p = .60$
IL-1 $\alpha$	1.6, (1.6 - 10.37)	1.6, (1.6 - 40.26)	$p = .96$
IL-9	1.6, (0.74 - 1.6)	1.6, (0.91 - 1.6)	$p = .77$
IL-1 $\beta$	2.48, (1.07 - 15.67)	5.05, (1.38 - 584.36)	$p = .56$
IL-2	1.81, (1.59 - 13.15)	4.26, (1.59 - 13.90)	$p = .70$
<b>IL-3</b>	<b>1.6, (0.47 - 1.6)</b>	<b>1.6, (1.6 - 2.26)</b>	<b><math>p = .033</math></b>
IL-4	1.99, (1.99 - 4.69)	2.67, (1.99 - 9.20)	$p = .33$
IL-5	1.61, (0.25 - 2.31)	1.61, (0.48 - 7.16)	$p = .16$

IL-6	21.46, (5.34 - 207.27)	11.87, (4.93 - 1961.23)	<i>p</i> = .97
IL-7	1.61, (1.48 - 4.36)	2.34, (1.48 - 4.88)	<i>p</i> = .58
IL-8	1141.41, (553.67 - 2028.99)	875,74, (294.25 - 3120.49)	<i>p</i> = .68
IP-10	796.9, (159.94 - 6846.46)	642.31, (108.14 - 5862.14)	<i>p</i> = .86
MCP-1	5366.16, (3225.11 - 7811.43)	6722.17, (3127.03 - 8325.18)	<i>p</i> = .33
MIP-1 $\alpha$	43.19, (10.14 - 249.93)	88.08, (12.95 - 315.69)	<i>p</i> = .40
MIP-1 $\beta$	169.3, (46.98 - 507.01)	146.01, (47.12 - 520.78)	<i>p</i> = .98
RANTES	253.76, (125.33 - 884.1)	295.20, (116.64 - 958.81)	<i>p</i> = .94
TNF $\alpha$	36.47, (12.32 - 447.6)	119.33, (14.37 - 1494.72)	<i>p</i> = .29
VEGF	11.79, (2.38 - 69.57)	12.28, (7.92 - 211)	<i>p</i> = .20
EOTAXIN-2	203.51, (147.03 - 454.35)	177.68, (79.70 - 426.32)	<i>p</i> = .35
MCP-2	241.21, (68.18 - 516.70)	158.86, (85.92 - 459.75)	<i>p</i> = .60
MCP-4	9.75, (5.26 - 17.68)	6.76, (5.32 - 13.88)	<i>p</i> = .37
I-309	7.47, (5.19 - 11.65)	9.81, (4.29 - 19.93)	<i>p</i> = .25
IL-16	56.97, (42.00 - 74.22)	72.52, (50.01 - 108.17)	<i>p</i> = .073
TARC	1.54, (0.84 - 2.27)	1.4, (0.86 - 3.01)	<i>p</i> = .98
EOTAXIN-3	113.48, (113.48 - 131.50)	113.48, (113.48 - 189.20)	<i>p</i> = .26
LIF	9.74, (9.74 - 9.74)	9.74, (6.89 - 9.74)	<i>p</i> = .81
TPO	24.24, (9.83 - 24.24)	24.24, (18.74 - 24.24)	<i>p</i> = .31
<b>SCF</b>	<b>4.81, (4.81 - 4.81)</b>	<b>4.81, (2.35 - 4.81)</b>	<b><i>p</i> = .021</b>
TSLP	4.89, (3.02 - 4.89)	4.89, (2.91 - 4.89)	<i>p</i> = .65
IL-33	9.76, (2.62 - 9.76)	9.76, (4.20 - 9.76)	<i>p</i> = .43
IL-20	31.54, (24.38 - 51.06)	28.75, (24.38 - 38.32)	<i>p</i> = .96
IL-21	9.75, (9.75 - 9.75)	9.75, (9.75 - 9.75)	<i>p</i> = .43
IL-23	23.62, (23.62 - 23.62)	23.62, (20.4 - 23.62)	<i>p</i> = .43
TRAIL	3.78, (1.78 - 4.86)	2.41, (1.61 - 4.86)	<i>p</i> = .50
SDF-1 $\alpha$ + $\beta$	57.97, (48.08 - 95.69)	48.08, (48.08 - 83.51)	<i>p</i> = .23
ENA-78	212.16, (57.83 - 594.50)	90.56, (35.1 - 298.51)	<i>p</i> = .22
MIP-1D	24.42, (24.42 - 24.42)	24.42, (11.69 - 24.24)	<i>p</i> = .27
IL-28A	4.66, (4.66 - 4.66)	4.66, (4.66 - 4.66)	<i>p</i> = 1.00

RV+ rinoviruspositiiviset näytteet. RV- rinovirusnegatiiviset näytteet.

P-arvo < 0.05 määriteltiin tilastollisesti merkittäväksi. Tilastollisesti merkittävät muuttujat on tummennettu. med, mediaani. IQR interquartile range

Aineiston analyysiin on käytetty Wilcoxon rank sum -testiä ja Chi square -testiä.

Akuutin sairauden aikana otetuista näytteistä tehtiin myös sytokiinianalyysi käyttämällä stimulaattorina TLR7/8-agonisti CLO97:aa. Akuutin vaiheen näytteissä tilastollisesti merkittäviä sytokiinivaste-eroja RV+ ja RV- ryhmien välillä havaittiin sytokiineissä GM-CSF, IFN $\alpha$ 2, Eotaxin-2, I-309, TARC sekä ENA-78. Rinoviruspotilaiden ryhmässä havaittiin korkeampia pitoisuuksia sytokiineissä GM-CSF (mediaani 23.3, IQR 8.3-197.47 vs. 7.88, 1.59-26.08  $p = .046$ ), IFN $\alpha$ 2 (8.03, 3.07-53.81 vs. 2.31, 1.46-5.74,  $p = .018$ ), Eotaxin-2 (222.85, 108.2-522.28 vs. 73.99, 43.18-249.29,  $p = .019$ ), I-309 (34.03, 19.51-68.63 vs. 20.18, 12.99 vs. 26.26,  $p = .0018$ ), TARC (2.22, 1.55-3.13 vs. 1.71, 1.33-2.14,  $p = .038$ ) ja ENA-78 (967.15, 271.08-3106.15 vs. 581.79, 132.00-1105.93,  $p = .036$ ).

Potilasryhmien sisällä tehtiin analyysiä potilasominaisuuksien perusteella. RV+-potilaiden kohdalla atoopikoilla havaittiin TLR7/8-agonististimulaatiossa korkeampia pitoisuuksia tämän potilasryhmän ei-atoopikkoihin verrattuna sytokiineissä IL-10 (124.43, 54.46-1067.16 vs. 34.04, 6.65-303.81,  $p = .045$ ) ja IL-13 (9.56, 5.69-25.60 vs. 5.94, 2.84-10.93,  $p = .048$ ). Aeroallergeeniherkistyneillä havaittiin korkeampia pitoisuuksia sytokiineissä IFN $\alpha$ 2 (114.51, 9.75-414.82 vs. 6.55, 3.04-22.68,  $p = .044$ ) ja IL-10 (137.41, 54.46-1327.33 vs. 34.9, 6.76-207.02,  $p = .046$ ). MCP-2-pitoisuuksien puolestaan havaittiin olevan aeroallergeeniherkistymättömillä korkeampia (1020.71, 301.31-1522.78 vs. 335.85, 22.73-909.87,  $p = .049$ ).

Taulukko 3. TLR7/8-agonisti CLO97:lla stimuloitujen alkuvaiheen näytteet.

TLR7/8- AGONISTI, ALKU	RV+, N=45, MED, (IQR)	RV-, N=22 MED, (IQR)	P-ARVO
EGF	3.2, (1.68- 4.0)	3.05, (1.6 - 5.74)	$p = .60$
FGF-2	10.36, (10.36 - 10.51)	10.36, (10.36 - 10.36)	$p = .26$
EOTAXIN	1.62, (1.62 - 2.39)	1.62, (1.62 - 2.15)	$p = .51$
TGF- $\alpha$	1.6, (1.6 - 4.2)	1.6, (1.6 - 1.6)	$p = .32$
G-CSF	8.97, (8.85 - 621.64)	8.85, (8.85 - 24.49)	$p = .48$
<b>GM-CSF</b>	<b>23.3, (8.3 - 197.47)</b>	<b>7.88, (1.59 - 26.08)</b>	<b><math>p = .046</math></b>
FRACTALKINE	16.44, (8.27 - 24.27)	9.75, (8.25 - 16.12)	$p = .19$
<b>IFN<math>\alpha</math>2</b>	<b>8.03, (3.07 - 53.81)</b>	<b>2.31, (1.46 - 5.74)</b>	<b><math>p = .018</math></b>
IFN $\gamma$	10.04, (1.99 - 64.21)	5.53, (1.61 - 75.92)	$p = .48$
IL-10	63.1, (7.84 - 519.01)	12.04, (5.38 - 128.78)	$p = .18$

MCP-3	390.51, (112.4 - 390.51)	220.74, (23.00 - 390.51)	<i>p</i> = .18
IL-12P40	1.56, (1.56 - 104.48)	1.56, (1.56 - 2.06)	<i>p</i> = .17
MDC	582.22, (198.94 - 1838.18)	660.11, (124.58 - 4744.29)	<i>p</i> = .98
IL-12P70	1.62, (0.64 - 10.87)	1.62, (0.57 - 2.25)	<i>p</i> = .053
IL-13	7.2, (2.9 - 14.58)	4.23, (1.45 - 37.37)	<i>p</i> = .64
IL-15	1.55, (1.55 - 1.55)	1.55, (1.55 - 1.55)	<i>p</i> = .12
SCD40L	1.42, (1.42 - 4.28)	1.42, (1.42 - 4.83)	<i>p</i> = .87
IL-17A	1.41, (1.41 - 1.49)	1.41, (1.41 - 5.33)	<i>p</i> = .35
IL-1RA	209.49, (25.78 - 687.91)	165.65, (27.05 - 288.93)	<i>p</i> = .35
IL-1 $\alpha$	1.6, (1.6 - 65.99)	1.6, (1.6 - 10.63)	<i>p</i> = .25
IL-9	1.6, (0.77 - 1.6)	1.6, (1.10 - 1.6)	<i>p</i> = .43
IL-1 $\beta$	4.19, (0.60 - 781.68)	3.06, (1.49 - 30.32)	<i>p</i> = .74
IL-2	1.59, (1.58 - 16.13)	11.58, (1.59 - 33.31)	<i>p</i> = .068
IL-3	1.6, (0.63 - 1.66)	1.6, (1.57 - 1.6)	<i>p</i> = .70
IL-4	1.99, (1.99 - 4.49)	2.85, (1.99 - 10.99)	<i>p</i> = .25
IL-5	0.86, (0.27 - 1.61)	1.61, (0.44 - 2.62)	<i>p</i> = .074
IL-6	55.94, (7.74 - 1961.23)	25.85, (4.64 - 237.48)	<i>p</i> = .30
IL-7	1.96, (1.48 - 5.09)	1.48, (1.48 - 4.05)	<i>p</i> = .27
IL-8	1353.48, (624.41 - 2452.61)	901.21, (500.82 - 2546.95)	<i>p</i> = .25
IP-10	1134.33, (352.64 - 9204.53)	1330.01, (657.04 - 8501.28)	<i>p</i> = .97
MCP-1	6262.48, (4559.42 - 8329.01)	5364.71, (3543.05 - 7210.14)	<i>p</i> = .33
MIP-1 $\alpha$	74.12, (7.92 - 1004.70)	31.02, (5.47 - 502.30)	<i>p</i> = .23
MIP-1 $\beta$	297.02, (64.48 - 1494.85)	145.57, (46.89 - 668.87)	<i>p</i> = .20
RANTES	221.74, (116.11 - 778.91)	221.54, (122.29 - 543.90)	<i>p</i> = .64
TNF $\alpha$	121.11, (28.85 - 1735.13)	102.83, (5.70 - 660.94)	<i>p</i> = .16
VEGF	38.88, (8.46 - 211.00)	12.99, (5.43 - 211.00)	<i>p</i> = .68
<b>EOTAXIN-2</b>	<b>222.85, (108.2 - 522.28)</b>	<b>73.99, (43.18 - 249.29)</b>	<b><i>p</i> = .019</b>
MCP-2	601.02, (263.10 - 1315.48)	408.04, (110.22 - 944.48)	<i>p</i> = .28
MCP-4	18.25, (8.05 - 31.71)	19.92, (9.08 - 33.25)	<i>p</i> = .75
<b>I-309</b>	<b>34.03, (19.51 - 68.63)</b>	<b>20.18, (12.99 - 26.26)</b>	<b><i>p</i> = .0018</b>
IL-16	54.60, (37.03 - 69.72)	68.77, (37.17 - 83.24)	<i>p</i> = .16
<b>TARC</b>	<b>2.22, (1.55 - 3.13)</b>	<b>1.71, (1.33 - 2.14)</b>	<b><i>p</i> = .038</b>
EOTAXIN-3	113.47, (113.47 - 198.4)	113.47, (113.47 - 184.72)	<i>p</i> = .63
LIF	9.74, (6.10 - 9.74)	9.74, (6.73 - 9.74)	<i>p</i> = .91
TPO	24.24, (19.73 - 24.24)	24.24, (18.74 - 24.24)	<i>p</i> = .77
SCF	4.81, (4.81 - 4.81)	2.35, (4.81 - 4.81)	<i>p</i> = .058

TSLP	4.89, (2.96 - 4.89)	4.89, (3.15 - 4.89)	$p = 1.0$
IL-33	9.76, (2.12 - 9.76)	9.76, (2.59 - 9.76)	$p = .91$
IL-20	37.84, (24.38 - 64.94)	41.27, (24.38 - 58.10)	$p = .96$
IL-21	9.75, (9.75 - 9.75)	9.75, (8.54 - 9.75)	$p = .52$
IL-23	23.62, (23.62 - 64.4)	23.62, (11.79 - 43.45)	$p = .23$
TRAIL	3.83, (2.15 - 4.86)	2.90, (2.17 - 4.86)	$p = .41$
SDF-1 $\alpha$ + $\beta$	65.79, (48.08 - 120.65)	48.08, (48.08 - 97.70)	$p = .26$
<b>ENA-78</b>	<b>967.15, (271.08 - 3106.15)</b>	<b>581.79, (132.00 - 1105.93)</b>	<b><math>p = .036</math></b>
MIP-1D	24.24, (24.24 - 24.24)	24.24, (8.68 - 24.24)	$p = .072$
IL-28A	4.66, (4.66 - 4.66)	4.66, (4.66 - 4.66)	$p = .88$

RV+ rinoviruspositiiviset näytteet. RV- rinovirusnegatiiviset näytteet.

P-arvo < 0.05 on päätetty tilastollisesti merkittäväksi. Tilastollisesti merkittävät muuttujat tummennettu. med, mediaani. IQR interquartile range

Aineiston analyysiin on käytetty Wilcoxon rank sum -testiä ja Chi square -testiä

### 3.4.Erot TLR-stimulaatiovasteissa 2 viikkoa myöhemmin

Ensimmäistä kertaa vinkuvilta lapsilta otettiin myös kaksi viikkoa myöhemmin seurantanäytteet, joilla tehtiin samanlaiset analyysit kuin tulovaiheen näytteille. Tutkimuksessa RV+ -potilaille tehtiin randomoitu tutkimus antamalla toisille prednisolonia ja toisille lumelääkettä. Tästä analyysistä on sekoittavan komponentin vuoksi jätetty prednisolonia saaneiden RV+-potilaiden seurantanäytteet analysoimatta.

TLR3-agonististimulaatiossa rinoviruspotilailla havaittiin vertailuryhmää korkeampia pitoisuuksia sytokiineissä TGF- $\alpha$  (mediaani 1.6, IQR 1.6-3.35 vs. 1.6, 1.6-1.6,  $p = .041$ ) ja IL-8 (1457.42, 922.14-3079.67 vs. 921.85, 636.13-1312.97,  $p = .032$ ). RV- - potilasryhmässä havaittiin RV+-potilaita korkeampia pitoisuuksia sytokiineissä IL-12P70 (1.62, 1.52-42.46 vs. 0.79, 0.52-4.50,  $p = .017$ ) ja IL-16 (61.11, 45.71-104.66 vs. 42.64, 34.71-57.12,  $p = .011$ ). (Taulukko 4).

Myös TLR3-agonististimuloitujen näytteiden kahden viikon aikana tapahtunutta potilaskohtaista muutosta analysoitiin (taulukko 5). Tässä kyseisessä aineistossa ei havaittu tilastollisesti merkittäviä eroja sytokiinivasteissa rinoviruspositiivisen potilasryhmän ja rinovirusnegatiivisen potilasryhmän välillä.



Taulukko 4. TLR3-agonisti Poly(I:C):llä stimuloitujen 2 viikon seurantanäytteet. Prednisolonia saaneet RV+-potilaat jätetty pois.

TLR3- AGONISTI, 2VKO	RV+ MED, (IQR)	RV-, MED, (IQR)	P- ARVO
EGF	3.38, (1.6 - 4.98)	2.87, (1.70 - 5.16)	<i>p</i> = .89
FGF-2	10.36, (10.36 - 15.62)	10.36, (10.36 - 10.36)	<i>p</i> = .38
EOTAXIN	1.81, (1.62 - 2.35)	1.62, (1.62 - 2.3)	<i>p</i> = .59
<b>TGF-<math>\alpha</math></b>	<b>1.6, (1.6 - 3.35)</b>	<b>1.6, (1.6 - 1.6)</b>	<b><i>p</i> = .041</b>
G-CSF	11.46, (8.85 - 42.56)	11.58, (6.65 - 184.27)	<i>p</i> = .94
GM-CSF	27.72, (1.59 - 133.67)	19.21, (1.59 - 60.62)	<i>p</i> = .82
FRACTALKINE	16.84, (11.72 - 25.09)	8.25, (8.25 - 25.51)	<i>p</i> = .063
IFN $\alpha$ 2	7.52, (2.7 - 191.34)	6.94, (3.16 - 25.27)	<i>p</i> = .60
IFN $\gamma$	32.34, (1.53 - 267.65)	19.26, (1.61 - 55.97)	<i>p</i> = .46
IL-10	154.41, (4.43 - 554.06)	36.23, (5.11 - 224.16)	<i>p</i> = .50
MCP-3	390.51, (100.33 - 390.51)	183.3, (60.86 - 390.51)	<i>p</i> = .36
IL-12P40	1.56, (1.56 - 25.07)	1.56, (1.56 - 168.68)	<i>p</i> = .26
MDC	626.52, (57.58 - 3379.46)	246.65, (103.68 - 792.52)	<i>p</i> = .34
<b>IL-12P70</b>	<b>0.79, (0.52 - 4.50)</b>	<b>1.62, (1.52 - 42.46)</b>	<b><i>p</i> = .017</b>
IL-13	6.8, (1.45 - 52.03)	4.79, (1.58 - 12.11)	<i>p</i> = .62
IL-15	1.55, (1.55 - 1.79)	1.55, (1.55 - 1.55)	<i>p</i> = .17
SCD40L	2.62, (1.42 - 4.86)	1.42, (1.42 - 2.69)	<i>p</i> = .097
IL-17A	1.41, (1.41 - 1.84)	1.41, (1.41 - 1.41)	<i>p</i> = .43
IL-1RA	325.74, (77.58 - 931.69)	107.71, (17.32 - 365.7)	<i>p</i> = .12
IL-1 $\alpha$	1.6, (1.6 - 31.31)	1.6, (1.6 - 107.24)	<i>p</i> = .78
IL-9	1.6 (0.95 - 1.6)	1.6, (1.6 - 1.6)	<i>p</i> = .64
IL-1 $\beta$	2.48, (0.79 - 108.42)	3.15, (1.30 - 1710.89)	<i>p</i> = .51
IL-2	6.04, (1.45 - 26.34)	1.59, (1.37 - 12.79)	<i>p</i> = .29
IL-3	1.6, (0.56 - 4.30)	1.6, (1.30 - 1.6)	<i>p</i> = .87
IL-4	1.99, (1.99 - 17.72)	1.99, (1.99 - 3.58)	<i>p</i> = .45
IL-5	0.43, (0.33 - 8.67)	1.61, (0.48 - 1.61)	<i>p</i> = .45
IL-6	49.63, (7.87 - 790.49)	36.54, (4.94 - 2452.09)	<i>p</i> = .94
IL-7	4.8, (1.48 - 6.20)	2.12, (1.48 - 4.46)	<i>p</i> = .34
<b>IL-8</b>	<b>1457.42, (922.14 - 3079.67)</b>	<b>921.85, (636.13 - 1312.97)</b>	<b><i>p</i> = .032</b>
IP-10	6246.43, (266.96 - 10036.19)	742.72, (291.41 - 1610.74)	<i>p</i> = .20
MCP-1	6.098.77, (3967.52 - 8249.58)	6657.53, (4460.02 - 7951.15)	<i>p</i> = .87

MIP-1 $\alpha$	65.25, (8.00 - 230.55)	281.42, (16.17 - 1776.89)	$p = .41$
MIP-1 $\beta$	223.19, (72.33 - 648.07)	287.15, (99.93 - 1125.53)	$p = .70$
RANTES	390, (148.79 - 751.63)	347.16, (123.25 - 1535.23)	$p = .72$
TNF $\alpha$	87.38, (17.63 - 1124.94)	200.64, (19.48 - 2443.67)	$p = .56$
VEGF	40.16, (6.47 - 211)	20.59, (10.42 - 211)	$p = .99$
EOTAXIN-2	313.53, (110.45 - 432.51)	118.99, (56.60 - 435.79)	$p = .26$
MCP-2	234.74, (122.56 - 865.62)	344.32, (200.25 - 1080.17)	$p = .20$
MCP-4	14.55, (8.08 - 21.32)	8.94, (5.23 - 21.75)	$p = .15$
I-309	9.76, (6.52 - 12.81)	8.1, (4.28 - 21.50)	$p = .62$
<b>IL-16</b>	<b>42.64, (34.71 - 57.12)</b>	<b>61.11, (45.71 - 104.66)</b>	<b><math>p = .011</math></b>
TARC	1.86, (0.86 - 3.34)	2.49, (1.24 - 3.85)	$p = .23$
EOTAXIN-3	113.48, (113.48 - 180.33)	113.48, (113.48 - 296.99)	$p = .54$
LIF	9.74, (7.23 - 9.74)	9.14, (6.02 - 9.74)	$p = .67$
TPO	24.24, (13.34 - 24.24)	24.24, (19.02 - 25.34)	$p = .23$
SCF	4.81, (4.81 - 4.81)	4.81, (2.95 - 4.81)	$p = .71$
TSLP	4.89, (2.81 - 4.89)	4.89, (3.05 - 4.89)	$p = .67$
IL-33	9.76, (9.76 - 9.76)	9.76, (2.63 - 9.76)	$p = .057$
IL-20	34.49, (24.38 - 49.84)	37.84, (24.38 - 53.79)	$p = .71$
IL-21	9.75, (9.75 - 9.75)	9.75, (9.75 - 9.75)	$p = .85$
IL-23	23.62, (20.52 - 35.72)	23.62, (11.71 - 30.46)	$p = .51$
TRAIL	4.5, (1.44 - 4.86)	2.57, (1.63 - 5.08)	$p = .93$
SDF-1 $\alpha$ + $\beta$	48.08, (48.08 - 92.59)	48.08, (48.08 - 103.99)	$v = .81$
ENA-78	71.99, (33.98 - 582.69)	68.84, (31.37 - 433.63)	$p = .98$
MIP-1D	24.24, (24.24 - 24.24)	24.24, (18.32 - 24.24)	$p = .25$
IL-28A	4.66, (4.66 - 4.66)	4.66, (4.66 - 4.66)	$p = .52$

RV+ rinoviruspositiivinen näyte. RV–rinovirusnegatiivinen näyte.

P-arvo < 0.05 on määritelty tilastollisesti merkittäväksi. Tilastollisesti merkittävät muuttujat on tummennettu. med, mediaani. IQR interquartile range

Aineiston analyysiin on käytetty Wilcoxon rank sum -testiä ja Chi square -tsetiä

Taulukko 5. TLR3-agonisti. Sytokiinivasteiden potilaskohtainen muutos: 2vko - tulovaihe. Prednisolonia saaneet RV+-potilaat jätetty pois.

TLR3- AGONISTI	RV+, MED, (IQR)	RV-, MED, (IQR)	P-ARVO
EGF	0, (-1.04 - 1.63)	0.75, (-1.71 - 2.61)	$p = .56$
FGF-2	0, (-2.8 - 2.62)	0, (0 - 2.13)	$p = 1.0$
EOTAXIN	-0.02, (-0.78 - 0.63)	0, (-0.49 - 0)	$p = .89$
TGF- $\alpha$	0, (-0.048 - 1.62)	0, (0 - 0.043)	$p = .31$
G-CSF	0, (0 - 677.63)	-2.48, (-114.46 - 64.29)	$p = .21$
GM-CSF	35.32, (-0.39 - 192.43)	21.46, (-4.22 - 61.87)	$p = .29$
FRACTALKINE	4.8, (-10.52 - 8.91)	0, (-7.48 - 13.44)	$p = .69$
IFN $\alpha$ 2	2.32, (-7.69 - 6.32)	2.23, (-6.47 - 7.46)	$p = .93$
IFN $\gamma$	17.84, (-30.66 - 144)	0.48, (-69.36 - 60.2)	$p = .56$
IL-10	148.71, (-40.21 - 388.47)	5.55, (-51.12 - 75.97)	$p = .27$
MCP-3	0, (-221.8 - 316.87)	35.55, (-241.78 - 250.55)	$p = .88$
IL-12P40	0, (0 - 30.50)	0, (-8.0 - 123.85)	$p = .89$
MDC	455.12, (44.85 - 3360.67)	116.77, (8.51 - 470.78)	$p = .25$
IL-12P70	-0.27, (-2.23 - 3.21)	1.06, (-0.27 - 15.66)	$p = .15$
IL-13	0.18, (-4.42 - 20.87)	0, (-6.46 - 4.01)	$p = .41$
IL-15	0, (-0.46 - 0)	0, (0 - 0)	$p = .46$
SCD40L	0.42, (-0.35 - 2.25)	-0.28, (-4.76 - 0.12)	$p = .10$
IL-17A	0, (-0.16 - 0.47)	0, (-0.24 - 0)	$p = .37$
IL-1RA	170.99, (-9.08 - 913.08)	62.21, (-21.27 - 194.47)	$p = .36$
IL-1 $\alpha$	0.01, (-0.065 - 17.01)	0, (-10.08 - 45.17)	$p = .92$
IL-9	0, (-0.79 - 0.25)	0, (0 - 0)	$p = .43$
IL-1 $\beta$	1.05, (-7.36 - 97.76)	-0.74, (-125.68 - 899.86)	$p = .92$
IL-2	4.66, (-5.15 - 22.90)	0, (-6.71 - 9.69)	$p = .42$
IL-3	0.17, (-0.48 - 2.07)	0, (-0.31 - 0.93)	$p = .48$
IL-4	0, (-2.19 - 6.82)	0, (-6.71 - 0.92)	$p = .33$
IL-5	0, (-0.72 - 1.52)	0, (-3.00 - 0.41)	$p = .70$
IL-6	26.83, (-33.64 - 783.62)	13.77, (-492.78 - 2070.54)	$p = 1.0$
IL-7	0.47, (-0.52 - 3.46)	0, (-2.50 - 0.75)	$p = .19$
IL-8	654.37, (-343.37 - 2980.57)	317.36, (-1966 - 606.64)	$p = .18$
IP-10	1533.55, (-186.32 - 9874.92)	41.99, (-1060.24 - 868.65)	$p = .11$
MCP-1	141.64, (-663.86 - 6506.98)	705.46, (-1248.24 - 3171.71)	$p = .58$

MIP-1 $\alpha$	28.29, (-109.19 - 107.08)	15.97, (-87.86 - 724.95)	$p = .61$
MIP-1 $\beta$	36.98, (-210.54 - 520.52)	36.98, (-210.54 - 520.52)	$p = .72$
RANTES	43.33, (-465.4 - 339.49)	-105.94, (-711.34 - 501.51)	$p = .68$
TNF $\alpha$	135.77, (-49.05 - 1115.06)	-6.03, (-503.67 - 1221.48)	$p = .39$
VEGF	12.19, (0 - 52.94)	0, (-34.5 - 9.77)	$p = .13$
EOTAXIN-2	2.51, (-315.12 - 197.35)	-18.79, (-100.08 - 231.68)	$p = .65$
MCP-2	-49.46, (-652.65 - 190.79)	193.08, (9.95 - 773.52)	$p = .053$
MCP-4	2.87, (-9.98 - 13.71)	0.6, (-4.77 - 8.05)	$p = .77$
I-309	0, (-3.18 - 4.23)	-2.01, (-8.93 - 7.99)	$p = .39$
IL-16	-11.77, (-31.56 - 8.07)	11.68, (-20.06 - 43.77)	$p = .16$
TARC	0.14, (-1.03 - 2.22)	0.74, (-0.20 - 4.84)	$p = .14$
EOTAXIN-3	0, (0 - 35.85)	0, (-41.1 - 221.25)	$p = .75$
LIF	0, (0 - 0)	0, (-1.59 - 6.65)	$p = .29$
TPO	0, (-10.59 - 16.14)	0, (0 - 12.29)	$p = .27$
SCF	0, (0 - 0)	0, (0 - 0.48)	$p = .76$
TSLP	0, (-0.03 - 0)	0, (-0.30 - 0.29)	$p = 1.0$
IL-33	0, (0 - 0)	0, (-1.17 - 0)	$p = .31$
IL-20	0, (-16.45 - 10.11)	0, (0 - 13.38)	$p = .44$
IL-21	0, (0 - 0)	-0.67, (0 - 0)	$p = .59$
IL-23	0, (-22.51 - 0)	0, (-22.51 - 25.48)	$p = .29$
TRAIL	-0.58, (-1.02 - 0.57)	0.09, (-1.22 - 2.79)	$p = .40$
SDF-1 $\alpha$ + $\beta$	0, (-9.89 - 19.42)	0, (-20.09 - 15.30)	$p = .93$
ENA-78	-61.43, (-161.64 - 469.46)	0.065, (-71.75 - 193.79)	$p = .24$
MIP-1D	0, (0 - 0)	0, (0 - 0)	$p = .72$
IL-28A	0, (0 - 0)	0, (0 - 0)	$p = .36$

RV+ rinoviruksen suhteen positiivinen näyte. RV- rinoviruksen suhteen negatiivinen näyte.

P-arvo < 0.05 on määritelty tilastollisesti merkittäväksi. Tilastollisesti merkittävät muuttujat on tummennettu.

med, mediaani. IQR interquartile range

Aineiston analyysiin on käytetty Wilcoxon rank sum -testiä ja Chi square -testiä

TLR7/8-agonististimulaatiossa kahden viikon kohdalla otetuista näytteistä tehtiin RV+- ja RV- - potilasryhmien välillä vertailua (taulukko 6). Rinoviruspotilailla havaittiin matalampia pitoisuuksia sytokiineissä TGF- $\alpha$  (1.6, 1.59-1.6 vs. 1.6, 1.6-2.99,  $p = .045$ , IL-13 (3.28, 1.45-12.16 vs. 7.48, 3.63-59.65,  $p = .046$ ) ja TRAIL (2.46, 1.13-4.2 vs. 4.17, 1.8-6.67,  $p = .020$ ). Myös IFN $\alpha$ 2-vasteiden välinen ero on tilastollisesti merkittävä ( $p = .045$ ), mutta yksi selkeästi muita korkeampi RV+ -arvo

aiheuttaa tässä mahdollisen vinoutuman. Rinoviruspotilailla havaittiin puolestaan vertailuryhmää korkeampia arvoja sytokiini IL-15 (1.55, 1.55-1.55 vs. 1.55, 0.78-1.55,  $p = .0098$ )

TLR7/8-agonististimuloitujen näytteiden kahden viikon aikana tapahtunutta potilaskohtaista sytokiinimuutosta analysoitiin potilasryhmien välillä (taulukko 7). Prednisolonia saaneet rinoviruspotilaat jätettiin tästä vertailusta pois. Rinoviruspotilailla havaittiin ryhmän sisällä vähemmän muutosta sytokiini GM-CSF kuin rinoviruksen suhteen negatiivisilla potilailla, joiden näytteissä kahden viikon aikana oli havaittavissa suurempia muutoksia sekä arvojen kohoamisessa että madaltumisessa (-12.11, -31.58 - -0.79 vs. 10.34, -2.67-228.64,  $p = .025$ ). Sytokiini IL-12P40 rinoviruspositiivisilla potilailla sytokiinipitoisuuksien olevan kahden viikon kohdalla matalampia kuin alkuvaiheessa verrattuna rinovirusnegatiivisiin näytteisiin (-0.25, 80.85-0 vs. 0, 0-76.69,  $p = .018$ ). IL-1 $\alpha$  havaittiin potilaskohtaisesti rinovirusnegatiivisten potilaiden kohdalla enemmän hajontaa kuin RV+-potilasryhmässä (1.39, -0.18-127.20 vs. -0.63, 42.30-0,  $p = .017$ ) samoin kuin IL-1 $\beta$ -pitoisuuksissa (1.93, -1.95-432.66 vs. -2.94, -271.13-2.72,  $p = .033$ ). IL-6-pitoisuuksien havaittiin potilaskohtaisesti olevan RV+-potilailla ensimmäisessä näytteessä suurempia kuin kahden viikon seurantanäytteissä verrattuna RV- -potilasryhmään (-74.37, -1037.41- -1.095 vs. 96.04, -23.97-2896.17,  $p = .010$ ). IL-8-pitoisuuksien havaittiin RV+-potilaiden kohdalla tyypillisesti seurantanäytteessä olleen alunäytettä matalampia arvoja vertailuryhmään verrattuna (-717.56, -1353.04 - -18.28 vs. 433.36, -482.63-2061.25,  $p = .015$ ). Myös TNF- $\alpha$ -pitoisuuksissa RV+-potilasryhmällä havaittiin potilaskohtaisesti alkuvaiheen näytteessä seurantanäytettä suurempia vasteita (-115.63, -1195.77-29.20 vs. 341.73, -90.70-1915.14,  $p = .015$ ). Eotaxin-2-pitoisuuden havaittiin tyypillisesti seurannassa RV+-potilailla pienentyvän vertailuryhmään enemmän (-105.6, -232.60-18.28 vs. 19.32, -16.23-138.77,  $p = .019$ ).

Taulukko 6. TLR7/8-agonisti CLO97:lla stimuloitujen 2 viikon seurantanäytteet. Prednisolonia saaneet RV+-potilaat jätetty pois.

TLR7/8- AGONISTI, 2VKO	RV+ MED, (IQR)	RV- MED, (IQR)	P-ARVO
EGF	3.86, (1.6 - 5.15)	3.62, (1.6 - 6.2)	$p = .86$
FGF-2	10.36, (10.36 - 13.28)	10.36, (10.36 - 10.36)	$p = .99$
EOTAXIN	1.62, (1.62 - 1.65)	2.0, (1.62 - 2.5)	$p = .054$
<b>TGF-<math>\alpha</math></b>	<b>1.6, (1.59 - 1.6)</b>	<b>1.6, (1.6 - 2.99)</b>	<b><math>p = .045</math></b>

G-CSF	10.64, (8.85 - 23.90)	17.34, (8.85 - 149.1)	<i>p</i> = .29
GM-CSF	3.12, (1.59 - 38.79)	13.27, (2.1 - 164.3)	<i>p</i> = .19
FRACTALKINE	13.76, (8.17 - 27.95)	8.25, (8.25 - 18.34)	<i>p</i> = .32
<b>IFN<math>\alpha</math>2</b>	<b>8.08, (4.37 - 25.99)</b>	<b>3.88, (1.46 - 7.91)</b>	<b><i>p</i> = .045</b>
IFN $\gamma$	2.52, (1.47 - 79.87)	26.36, (1.61 - 121.01)	<i>p</i> = .42
IL-10	8.64, (2.79 - 244.64)	71.65, (5.39 - 302.04)	<i>p</i> = .39
MCP-3	236.98, (117.33 - 390.51)	155.19, (41.98 - 390.51)	<i>p</i> = .40
IL-12P40	1.56, (1.56 - 2.68)	1.56, (1.56 - 46.93)	<i>p</i> = .68
MDC	204.86, (74.83 - 1428.75)	371.8, (43.36 - 1933.99)	<i>p</i> = .89
IL-12P70	1.62, (0.94 - 14.54)	1.62, (1.05 - 2.99)	<i>p</i> = .57
<b>IL-13</b>	<b>3.28, (1.45 - 12.16)</b>	<b>7.48, (3.63 - 59.65)</b>	<b><i>p</i> = .046</b>
<b>IL-15</b>	<b>1.55, (1.55 - 1.55)</b>	1.55, (0.78 - 1.55)	<b><i>p</i> = .0098</b>
SCD40L	1.42, (1.42 - 5.97)	1.42, (3.96 - 8.88)	<i>p</i> = .74
IL-17A	1.41, (1.41 - 1.41)	1.41, (1.41 - 5.29)	<i>p</i> = .37
IL-1RA	60.16, (19.94 - 371.86)	137.2, (23.21 - 377.14)	<i>p</i> = .92
IL-1 $\alpha$	1.6, (1.55 - 17.93)	2.14, (1.6 - 168.15)	<i>p</i> = .33
IL-9	1.6, (1.19 - 1.6)	1.6, (0.53 - 1.6)	<i>p</i> = .51
IL-1 $\beta$	2.66, (1.55 - 53.94)	6.11, (1.6 - 542.5)	<i>p</i> = .39
IL-2	2.94, (1.59 - 47.06)	1.59, (1.4 - 21.72)	<i>p</i> = .47
IL-3	1.6, (1.02 - 1.6)	1.6, (0.73 - 2.85)	<i>p</i> = .25
IL-4	1.99, (1.99 - 5.61)	1.99, (1.99 - 13.44)	<i>p</i> = .42
IL-5	1.61, (0.26 - 1.86)	1.61, (0.36 - 13.98)	<i>p</i> = .38
IL-6	32.16, (3.44 - 280.69)	98.21, (6.41 - 3533.05)	<i>p</i> = .16
IL-7	3.12, (1.58 - 4.62)	1.48, (1.37 - 3.88)	<i>p</i> = .15
IL-8	911.71, (496.03 - 1672.5)	1136.32, (731.15 - 3233.14)	<i>p</i> = .40
IP-10	1007.2, (219.95 - 10036.19)	1063.34, (123.56 - 7768.38)	<i>p</i> = .77
MCP-1	6413.41, (3210.96 - 8329.01)	5928.54, (5151.21 - 7540.01)	<i>p</i> = .72
MIP-1 $\alpha$	20.9, (6.63 - 285.21)	271.34, (3.82 - 673.9)	<i>p</i> = .16
MIP-1 $\beta$	71.1, (44.26 - 742.19)	409.8, (55.06 - 1449.98)	<i>p</i> = .14
RANTES	337.7, (121.74 - 925.44)	588.48, (87.34 - 1262.01)	<i>p</i> = .60
TNF $\alpha$	48.55, (6.62 - 669.10)	488.86, (20.79 - 2332.8)	<i>p</i> = .13
VEGF	17.18, (6.40 - 211.00)	20.59, (3.18 - 211.00)	<i>p</i> = .64
EOTAXIN-2	123.4, (32.05 - 420.83)	112.13, (22.27 - 538.76)	<i>p</i> = .68
MCP-2	1141.3, (462.9 - 1601.79)	1065.37, (521.93 - 1929.2)	<i>p</i> = .98
MCP-4	16.86, (7.99 - 28.02)	18.19, (8.53 - 31.3)	<i>p</i> = .96
I-309	21.88, (14.35 - 47.02)	18.03, (11.52 - 27.37)	<i>p</i> = .17

IL-16	41.4, (28.57 - 52.63)	42.75, (34.53 - 70.06)	$p = .34$
TARC	2.7, (1.73 - 3.71)	2.53, (1.78 - 4.23)	$p = .80$
EOTAXIN-3	113.47, (113.47 - 185.17)	113.47, (113.47 - 153.64)	$p = .37$
LIF	9.74, (9.1 - 9.74)	0.74, (4.55 - 9.74)	$p = .97$
TPO	24.24, (15.02 - 24.24)	24.24, (11.91 - 24.24)	$p = 1.0$
SCF	4.81, (4.81 - 4.81)	4.81, (2.18 - 4.81)	$p = .16$
TSLP	4.89, (2.85 - 4.89)	4.89, (2.89 - 4.89)	$p = .89$
IL-33	9.76, (5.25 - 9.76)	9.76, (2.28 - 9.76)	$p = .63$
IL-20	26.92, (24.38 - 50.89)	35.95, (24.38 - 54.23)	$p = .31$
IL-21	9.75, (9.75 - 9.75)	9.75, (5.12 - 9.75)	$p = .23$
IL-23	23.62, (23.62 - 49.26)	23.62, (23.62 - 29.41)	$p = .22$
<b>TRAIL</b>	<b>2.46, (1.13 - 4.2)</b>	<b>4.17, (1.8 - 6.67)</b>	<b><math>p = .020</math></b>
SDF-1 $\alpha$ + $\beta$	48.08, (48.08 - 128.75)	48.08, (48.08 - 115.38)	$p = 1.0$
ENA-78	329.76, (109.37 - 1917.58)	344.67, (156.1 - 787.37)	$p = .88$
MIP-1D	24.24, (24.24 - 24.24)	24.24, (24.24 - 24.24)	$p = .41$
IL-28A	4.66, (4.66 - 4.66)	4.66, (4.66 - 4.66)	$p = .28$

RV+ rinoviruspositiiviset näytteet. RV- rinovirusnegatiiviset näytteet.

P-arvo < 0.05 on määritelty tilastollisesti merkittäväksi. Tilastollisesti merkittävät muuttujat on tummennettu. med, mediaani. IQR interquartile range

Aineiston analyysiin on käytetty Wilcoxon rank sum -testiä ja Chi square -testiä.

*Taulukko 7. TLR7/8-agonisti. Sytokiinivasteiden potilaskohtaiset erotukset 2 vko - alkuvaihe. Prednisolonia saaneet RV+-potilaat jätetty pois.*

TLR7/8- AGONISTI	RV+, MED, (IQR)	RV-, MED, (IQR)	P-ARVO
EGF	0.99, (-0.44 - 3.68)	0.69, (0 - 2.58)	$p = .74$
FGF-2	0, (-2.08 - 6.16)	0, (0 - 5.20)	$p = .44$
EOTAXIN	0, (-0.46 - 0)	0, (0 - 0.63)	$p = .16$
TGF- $\alpha$	0, (-2.3 - 0)	0, (0 - 1.81)	$p = .094$
G-CSF	0, (-333.22 - 4.44)	0, (-2.38 - 379.69)	$p = .091$
<b>GM-CSF</b>	<b>-12.11, (-31.58 - -0.79)</b>	<b>10.34, (-2.67 - 228.64)</b>	<b><math>p = .025</math></b>
FRACTALKINE	1.21, (-10.56 - 16.35)	0, (-3.57 - 2.77)	$p = .57$
IFN $\alpha$ 2	-0.78, (-97.06 - 2.1)	0, (-2.25 - 4.99)	$p = .60$
IFN $\gamma$	-2.40, (-27.35 - 10.88)	6.25, (-8.24 - 112.5)	$p = 1.0$
IL-10	-30.84, (-61.68 - -1.25)	67.28, (-6.95 - 472.37)	$p = .069$
MCP-3	-87.18, (-311.08 - 91.78)	0, (-212.28 - 63.22)	$p = .36$

<b>IL-12P40</b>	<b>-0.25, (-80.85 - 0)</b>	<b>0, (0 - 76.69)</b>	<b><i>p</i> = .018</b>
MDC	-397.03, (-7628.08 - -39.41)	53.99, (-720.5 - 1245.47)	<i>p</i> = .069
IL-12P70	0, (-8.88 - 4.37)	0.41, (0 - 1.37)	<i>p</i> = .16
IL-13	-3.61, (-15.01 - -1.26)	2.46, (-24.20 - 36.93)	<i>p</i> = .10
IL-15	0, (-0.12 - 0)	0, (-1.11 - 0)	<i>p</i> = .15
SCD40L	0, (-5.88 - 0.67)	0, (-5.16 - 3.37)	<i>p</i> = .67
IL-17A	0, (0 - 0)	0, (-0.53 - 2.94)	<i>p</i> = .57
IL-1RA	-95.94, (-540.97 - 5.00)	5.83, (-192.09 - 252.57)	<i>p</i> = .083
<b>IL-1<math>\alpha</math></b>	<b>-0.63, (-42.30 - 0)</b>	<b>1.39, (-0.18 - 127.20)</b>	<b><i>p</i> = .017</b>
IL-9	0, (-0.06 - 1.10)	0, (-0.94 - 0)	<i>p</i> = .46
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>-2.94, (-271.13 - 2.72)</b>	<b>1.93, (-1.95 - 432.66)</b>	<b><i>p</i> = .033</b>
IL-2	0, (-7.17 - 12.61)	-0.07, (-25.67 - 1.29)	<i>p</i> = .37
IL-3	0, (-1.23 - 0.45)	0, (-0.75 - 3.65)	<i>p</i> = .48
IL-4	0, (-1.96 - 0)	0, (-11.24 - 9.77)	<i>p</i> = .59
IL-5	0, (-0.14 - 0.52)	0, (-2.31 - 10.2)	<i>p</i> = .84
<b>IL-6</b>	<b>-74.37, (-1937.41 - -1.095)</b>	<b>96.04, (-23.97 - 2896.17)</b>	<b><i>p</i> = .010</b>
IL-7	0, (-1.73 - 1.61)	0, (-2.79 - 2.38)	<i>p</i> = .69
<b>IL-8</b>	<b>-717.56, (-1353.04 - -18.28)</b>	<b>433.36, (-482.63 - 2061.25)</b>	<b><i>p</i> = .015</b>
IP-10	-1485.8, (-6601.19 - 1390.91)	266.57, (-179.81 - 1806.24)	<i>p</i> = .081
MCP-1	-349.63, (-2742.13 - 1917.71)	351.49, (-2412.07 - 2432.92)	<i>p</i> = .81
MIP-1 $\alpha$	-80.37, (-741.73 - 6.43)	189.70, (-252.07 - 628.46)	<i>p</i> = .064
MIP-1 $\beta$	-121.34, (-682.28 - 143.07)	108.76, (-362.04 - 1523.94)	<i>p</i> = .12
RANTES	61.85, (-252.87 - 306.54)	30.69, (-401.09 - 1003.61)	<i>p</i> = .72
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	<b>-115.63, (-1194.77 - 29.20)</b>	<b>341.73, (-90.70 - 1915.14)</b>	<b><i>p</i> = .015</b>
<b>VEGF</b>	<b>-12.37, (-189.30 - 0)</b>	<b>0, (-2.88 - 15.55)</b>	<b><i>p</i> = .037</b>
<b>EOTAXIN-2</b>	<b>-105.6, (-232.603 - 18.28)</b>	<b>19.32, (-16.23 - 138.77)</b>	<b><i>p</i> = .019</b>
MCP-2	86.77, (-461.34 - 549.20)	288.88, (-236.67 - 832.48)	<i>p</i> = .33
MCP-4	-22.02, (-47.12 - 6.75)	2.78, (-13.94 - 8.99)	<i>p</i> = .27
I-309	-6.86, (-37.71 - 4.67)	1.11, (-11.72 - 10.18)	<i>p</i> = .24
IL-16	-17.34, (-36.19 - -4.29)	4.79, (-28.84 - 27.06)	<i>p</i> = .15
TARC	-0.155, (-1.81 - 0.83)	0.59, (-0.21 - 0.82)	<i>p</i> = .17
EOTAXIN-3	0, (-3.53 - 5.83)	0, (-50.27 - 0)	<i>p</i> = .33
LIF	0, (0 - 0)	0, (-2.02 - 0)	<i>p</i> = .62
TPO	0, (-0.89 - 1.68)	0, (-13.06 - 7.76)	<i>p</i> = .98
SCF	0, (0 - 0)	0, (0 - 2.46)	<i>p</i> = .39
TSLP	0, (-0.035 - 0)	0, (-0.20 - 0)	<i>p</i> = .85



IL-33	0, (0 - 0)	0, (0 - 0)	$p = .98$
IL-20	-10.31, (-28.18 - 3.34)	-2.42, (-23.58 - 14.68)	$p = .69$
IL-21	0, (0 - 0)	0, (0 - 0)	$p = .88$
IL-23	0, (-14.92 - 22.53)	0, (-23.26 - 14.08)	$p = .61$
TRAIL	-1.61, (-4.74 - 1.08)	0.14, (-1.62 - 2.33)	$p = .11$
SDF-1 $\alpha$ + $\beta$	-4.22, (-50.21 - 0)	0, (-42.13 - 41.11)	$p = .25$
ENA-78	-534.95, (-1041.3 - 137.15)	74.03, (-467,82 - 406.26)	$p = .39$
MIP-1D	0, (0 - 0)	0, (0 - 0)	$p = .68$
IL-28A	0, (0 - 0)	0, (0 - 2.66)	$p = .16$

RV+ rinoviruksen suhteen positiivinen näyte. RV- rinoviruksen suhteen negatiivinen näyte.

P-arvo < 0.05 on määritelty tilastollisesti merkittäväksi. Tilastollisesti merkittävät muuttujat on tummennettu.

med, mediaani. IQR interquartile range

Aineiston analyysiin on käytetty Wilcoxon rank sum -testiä ja Chi square -testiä.

### 3.5.TLR-vasteiden korrelaatio kliiniseen taudinkulkuun

TLR3-agonististimuloituissa näytteissä RV+-potilasryhmässä havaittiin akuutin sairauden aikaisissa näytteissä neljän vuoden seurannan aikana astmaan sairastuneilla potilailla matalampia IL-12P70-pitoisuuksia kuin niillä, jotka eivät sairastuneet astmaan (mediaani 1.62, IQR 1.62-20.57 vs. 1.62, 0.80-1.62,  $p = .0058$ ).

Osastolle joutuneilla RV+-potilailla havaittiin alkuvaiheessa korkeampia IL-8-pitoisuuksia kuin niillä, jotka eivät tarvitse osastoseurantaa (1570.38, 536.47 vs. 536.47, 245.27-1039.29,  $p = .0084$ ). Tällä potilasryhmällä havaittiin myös alkuvaiheen näytteissä korkeampia VEGF-pitoisuuksia (28.38, 7.32-211.0 vs. 3.3, 1.51-13.19,  $p = .042$ ) sekä ENA-78-pitoisuudet (389.46, 95.72-789.16 vs. 49.82, 20-65-217.26,  $p = .0084$ ). RV+-potilailla, jotka saivat 2kk seurannassa relapsin eli taudin uusiutumista, havaittiin alkuvaiheessa matalammat SCF-pitoisuudet kuin niillä, jotka eivät saaneet relapsia (4.81, 4.81-4.81 vs. 4.81, 4.53-4.81,  $p = .040$ ), nämä samat potilaat olivat osin samoja, jotka joutuivat jäämään osastoseurantaan (4.81, 4.91-4.95 vs. 4.81, 4.81-4.81,  $p = .015$ ).

TLR3-agonististimuloituissa näytteissä niillä rinovirusnegatiivisilla potilailla, jotka neljän vuoden seurannassa sairastuivat astmaan, havaittiin alkuvaiheessa matalampia MCP-3-pitoisuuksia kuin niillä, jotka eivät sairastuneet (15.83, 6.82-24.84 vs. 154.0, 74.51-390.51,  $p = .036$ ).

Rinovirusnegatiivisilla kahden kuukauden seurannan aikana alkuvaiheen sCD40L-pitoisuuksien

havaittiin olevan matalampia kuin niillä, jotka eivät saaneet relapsia (0.42, 0.16-0.67 vs. 4.8, 1.42-7.28,  $p = .034$ ). LIF-pitoisuudet olivat alkuvaiheessa korkeammat kahden kuukauden seurannassa relapsin saaneilla (12.29, 10.96-13.61 vs. 9.74, 5.5-9.74,  $p = .021$ ) ja IL-23-pitoisuudet matalammat (1.94, 1.58-2.3 vs. 23.62, 23.62-23.62,  $p = .017$ ). Osastoseurantaan päätyneillä potilailla ENA-78-pitoisuudet korkeampia (115.18, 56.13-455.42 vs. 31.76, 26.7-33.66,  $p = .035$ ).

Kahden viikon kohdalla otetuista seurantanäytteistä näistä analyysistä poistettiin randomoidussa tutkimuksessa prednisolonia saaneet rinoviruspotilaat. Seuranta-aikana astmaan sairastuneilla RV+-potilailla havaittiin kahden viikon kohdalla otetuissa näytteissä matalampia FGF-2-pitoisuuksia (10.36, 10.36-10.36 vs. 15.06, 12.60-21.15,  $p = .023$ ) ja korkeampia IL-23-pitoisuuksia (20.48, 13.34-23.62 vs. 28.71, 23.62-51.52,  $p = .0067$ ) kuin niillä, jotka eivät sairastuneet astmaan. Myös LIF-pitoisuuksien (9.75, 9.74-9.74 vs. 6.93, 3.70-9.74,  $p = .042$ ) havaittiin tuolloin olevan astmaan sairastuneilla RV+-potilailla korkeampia. IL-20-pitoisuudet olivat korkeampia niillä, jotka eivät saaneet relapsia (47.75, 31.11-69.48 vs. 26.07, 24.38-36.61,  $p = .049$ ). Osastoseurannassa olleilla RV+-potilailla seurantanäytteiden SDF-1a+b -pitoisuudet olivat korkeampia (73.56, 48.08-102.70 vs. 48.08, 43.31-48.08,  $p = .018$ ).

Kahden viikon kohdalla otetuissa rinovirusnegatiivisten potilaiden näytteissä osastoseurannassa olleilla potilailla EGF-pitoisuudet olivat matalampia (2.87, 1.66-4.19 vs. 7.08, 6.51-7.64,  $p = .048$ ). Eotaxin-3 (1154.71, 405.15-1904.27 vs. 113.48, 113.48-221.51,  $p = .0082$ ), RANTES (292.67, 122.58-1074.85 vs. 2282.01, 1768.07-2795.95,  $p = .036$ ) sekä IL-21 (9.75, 9.75-9.75 vs. 6.29, 3.43-9.14,  $p = .026$ ) olivat tällä potilasryhmällä korkeammat.

TLR7/8-agonististimuloituissa näytteissä havaittiin, että RV+-potilaiden välillä Eotaxin-2-vastepitoisuudet olivat alkuvaiheessa korkeammat niillä, jotka saivat relapsin 2kk aikana (354.27, 126.32-645.27 vs. 161.37, 89.19-314.90,  $p = .028$ ), IL-23-pitoisuuksien taas havaittiin näillä olevan matalammat (23.62, 21.94-62.6 vs. 46.15, 24.35-80.41,  $p = .031$ ). MCP-2-pitoisuudet olivat alkuvaiheessa matalammat niillä RV+-potilailla, joille kehittyi neljän vuoden seurannassa astma (293.34, 60.95-598.77 vs. 1162.41, 533.76-1386.94,  $p = .050$ ).

TLR7/8-aineistosta kahden viikon seurantanäytteiden analyysistä poistettiin ne RV+-potilaat, jotka olivat saaneet randomoidussa tutkimuksessa prednisolonia. Potilailla, jotka saivat relapsin 2kk sisällä, oli havaittavissa korkeammat IL-12P70-pitoisuudet (4.1, 1.62-32.70 vs. 0.94, 0.66-1.62,  $p = .013$ ) ja IL-3-pitoisuudet (1.6, 1.53-1.87 vs. 1.02, 0.38-1.6,  $p = .0018$ ).

#### 4. POHDINTA

TLR3-agonististimulaatiossa havaittiin siis akuutin sairauden aikana rinovirusetiologialla olevan vaikutusta etenkin infektion aikana imukudokseen basofiileja rekrytoivan sytokiinin, IL-3-pitoisuuksiin, jotka olivat RV+-potilaiden näytteissä matalampia kuin RV- -negatiivisissa näytteissä. TLR3-agonististimulaatiossa kahden viikon näytteistä RV+-potilailla havaittiin korkeammat IL-8- ja TGF- $\alpha$ -pitoisuudet ja matalammat IL-12P70- ja IL-16-pitoisuudet. Atoopikko-RV+-potilailla havaittiin ei-atoopikko-RV+-potilailta matalampia pitoisuuksia akuutin sairauden aikana IL-5-, IL-13-, IL-17A- ja RANTES-pitoisuuksissa. IL-5 ja IL-13 ovat granulosityytteihin vaikuttavia Th2-sytokiineja, mikä indikoi sitä, että ei-atoopikoilla, joilla eosinofiilipitoisuudet ovat ennen sairautta olleet matalampia, immuunipuolustus reagoi RV+-infektioon alkuvaiheessa hieman tehokkaammin. Aeroallergeeniherkistyneillä RV+-potilailla puolestaan matalampia IL-17A-, Eotaxin-3- ja IL-12P70-pitoisuuksia. Aikaisempi RV+-potilaan atopia tai aeroallergeeniherkistyminen näyttäisi siis vaikuttavan akuutin sairauden IL-17A-pitoisuuksia laskevasti. IL-17A on tyypin 17 auttaja-T-soluihin kuuluva sytokiini, joka on aikaisemmin yhdistetty esimerkiksi autoimmuunisairauksiin. RV+-potilailla, jotka saivat relapsin, havaittiin akuutin sairauden aikana matalampia SCF-pitoisuuksia. Puolestaan neljän vuoden ikään mennessä astmaan sairastuneilla RV+-potilailla havaittiin akuutin sairauden aikana korkeampia IL-12P70-pitoisuuksia ja kahden viikon kohdalla korkeampia IL-23-pitoisuuksia ja matalampia FGF-2-pitoisuuksia.

TLR3-agonististimulaatiossa IL-12P70-pitoisuuksien havaittiin siis olevan akuutin sairauden aikana korkeampia niillä RV+-potilailla, jotka sairastuivat seurannassa astmaan. Puolestaan akuutin sairauden aikana aeroallergeeniherkistyneillä RV+-potilailla havaittiin matalampia IL-12P70-pitoisuuksia. Kahden viikon kohdalla otetuissa seurantanäytteissä RV+-potilailla IL-12P70-pitoisuuksien havaittiin olevan matalampia kuin RV- -potilailla. IL-12 on tyypin 1 immuunipuolustuksen solujen erilaistumiseen vaikuttava välittäjäaine, jota erittyä vaurioituneesta kudoksesta. Aeroallergeeniherkistyminen on tunnettu astman riskitekijä, mutta tässä tutkimuksessa jo todettu aeroallergeeniherkistyminen RV+-infektiossa vaikutti IL-12P70-pitoisuuksiin niitä alentavasti, kun taas astmaan sairastuneilla RV+-infektiopotilailla IL-12P70-pitoisuudet olivat astmaan sairastumattomia korkeampia. Tässä tutkielmassa ei tutkittu sitä havaitaanko astmaan sairastuneiden aeroallergeeniherkistyneiden RV+-potilaiden ja aeroallergeeniherkistymättömien astmaan sairastuneiden RV+-potilaiden IL-12P70-sytokiinivasteissa eroja. Aiemmissä tutkimuksissa RV-bronkiolittipotilailla on havaittu RSV-bronkioliittipotilaita matalampia IL-12-

pitoisuuksia<sup>28</sup>. Aiempia tutkimuksia, joissa olisi erityisesti tutkittu tätä tiettyä IL-12-alatyyppeä IL-12P70:a, ei haussa löytynyt.

TLR7/8-agonististimulaatioissa rinovirusetiologialla havaittiin olevan vaikutusta useamman eri sytokiinin pitoisuuteen. RV+-potilailla havaittiin akuutin sairauden aikana korkeampia Eotaxin-2-, ENA-78-, I-309-, IFN- $\alpha$ 2-, GM-CSF- ja TARC -pitoisuuksia. Kahden viikon kohdalla otetuista näytteistä rinovirusetiologialla havaittiin olevan merkitystä RV+-potilaiden korkeampiin IFN- $\alpha$ 2- ja IL-15-pitoisuuksiin sekä matalampiin IL-13-, TGF- $\alpha$ - ja TRAIL-pitoisuuksiin. TLR7/8-agonististimulaatioissa kahden viikon näytteissä RV+-potilailla tapahtui näytteissä Eotaxin-2, IL-1 $\alpha$ -, IL-1 $\beta$ -, IL-6-, IL-8-, IL-12P40, TNF- $\alpha$ - ja VEGF-pitoisuuksien suurempaa pientymistä.

Vaikuttaisi siis siltä, että RV+-potilaiden infektioiden aikana IFN- $\alpha$ 2-pitoisuudet ovat sekä alkusairaudessa että kahden viikon kohdalla korkeampia kuin RV- -potilailla. Aikaisemmissa tutkimuksissa IFN- $\alpha$ -tuotannon on todettu olevan astmapotilailla akuutin infektion aikana koholla.<sup>29</sup> Nyt akuutin sairauden aikana ainoastaan aeroallergeeniherkityneillä RV+-potilailla havaittiin aeroallergeeniherkistymättömiä RV+-potilaita matalampia IFN- $\alpha$ 2-pitoisuuksia, mutta muutoin akuutin sairauden aikana virusetiologialla tai potilasominaisuuksilla ei havaittu olevan vaikutusta IFN- $\alpha$ 2-pitoisuuksiin. Tässä aineistossa ei ollut mukana terveitä verrokkeja, joiden IFN- $\alpha$ 2-pitoisuuksien voisi olettaa olevan matalampia kuin bronkioliittipotilailla.

TLR7/8-agonististimuloituissa näytteissä akuutin sairauden aikana kahden kuukauden aikana relapsin saaneiden RV+-potilaiden Eotaxin-2-pitoisuudet olivat korkeammat ja IL-23-pitoisuudet matalammat. Kahden viikon kohdalla otetuissa seurantanäytteissä relapsin saaneilla potilailla IL-3- ja IL-12P70-pitoisuudet olivat korkeampia. Alkusairauden aikaiset matalat MCP-2-pitoisuudet näyttäisivät vaikuttavan astman kehittymiseen, ja kiinnostavasti myös aeroallergeeniherkistyneillä RV+-potilailla havaittiin akuutin sairauden aikana matalia MCP-2 -pitoisuuksia.

TLR7/8-agonististimulaatioissa Eotaxin-2-pitoisuuksien havaittiin siis RV+-potilailla olevan akuutin sairauden aikana korkeampia kuin RV- -potilailla, ja seurannassa vastaavasti pitoisuuksien laskevan enemmän kuin RV- -potilailla. Akuutin sairauden aikaiset korkeammat Eotaxin-2-pitoisuudet näyttivät lisäävän myös RV+-potilaiden taudin uusiutumisen todennäköisyyttä. Akuutin sairauden aikaiset korkeammat Eotaxin-2-pitoisuudet ovat ymmärrettäviä, sillä rinovirusbronkioliittipotilailla on havaittu mm. enemmän allergeeniherkistymistä ja Eotaxin-2 on

eosinofiileja aktivoiva sytokiini. Pitoisuuden voitiin kuitenkin havaita olevan suurempi vain akuutin sairauden aikana, sillä seurantavaiheen näytteissä rinovirusetiologialla ei enää havaittu vaikutusta Eotaxin-2-pitoisuuteen.

Lisäksi TLR7/8-agonististimuloituissa näytteissä havaittiin RV+-potilaiden seurantanäytteiden korkeampien IL-12P70-pitoisuuksien ennakoivan taudin uusiutumista kahden kuukauden seurannan aikana. Lisäksi akuutin sairauden aikaiset matalammat MCP-2-pitoisuudet voitiin yhdistää sekä atopiaan että astman uusiutumiseen. MCP-2 toimii useiden eri immuunipuolustuksen solujen, kuten eosinofiilien ja mast-solujen aktivoijana.

Mielenkiintoista on, että Th2-immuniteettiin yhdistetyissä sytokiineissä IL-25, IL-33 ja TSLP, jotka aikaisemmin on yhdistetty ilmäteiden epiteelisolujen inflammaatioon, ei tässä tutkielmassa havaittu eroa RV+- ja RV- -potilaiden näytteiden välillä.

Tässä tutkielmassa on useita mahdollisia virhelähteitä. Rinoviruksen alalajit (A, B ja C) on yhdistetty samaan ryhmään, eikä lajiteltu erikseen, joka aiheuttaa mahdollisen virhelähteen, sillä erityisesti rinovirus-C on yhdistetty astman kehittymiseen. Myös ko-infektiopotilaat, eli potilaat, joilla oli sekä rinovirus että RS-virus, on jätetty kokonaan analyysistä pois samoin kuin potilaat, joilla on rinoviruksen ja jokin muu virus infektion takana. Kahden viikon kohdalla otetuista seurantanäytteistä on näissä analyyseissä poistettu rinoviruspotilaat, jotka randomoidussa tutkimuksessa saivat systeemistä kortikosteroidihoitoa prednisolonilla. Tämän vuoksi seurantanäytteissä RV+-potilaiden näytteitä oli vähemmän kuin akuutin sairauden aikaisia. Nyt vertailtiin siis vain RV+- ja RV- -potilaita, jotka eivät olleet saaneet systeemistä kortikosteroidikuuria. Tutkimusryhmän koko oli siis melko pieni ja terveitä verrokkeja ei ollut. Mahdollisen virhelähteen muodostaa myös aineiston sytokiiniinien OOR> ja OOR> -arvot, ja arvojen muuttaminen erillisen ohjeen mukaiseksi.

#### 4.1 Päätelmä

Tässä tutkielmassa havaittiin, että ensimmäistä kertaa vinkuvilla lapsilla rinovirusetiologialla on vaikutusta sytokiinivasteisiin, niin akuutin sairauden aikana kuin myös kahden viikon seurantanäytteissä. Potilasominaisuuksilla havaittiin olevan vaikutusta etenkin rinoviruspositiivisten

ryhmän keskuudessa. Rinoviruksen suhteen negatiivisissa näytteissä taudin aiheuttajia oli useita erilaisia, ja tämän ryhmän sisällä selkeitä johtopäätöksiä ei voida tehdä.

Tarvitaan vielä lisää tutkimusta ensimmäistä kertaa uloshengitysvaikeuksista kärsivien lapsipotilaiden sytokiinivasteista, ja niiden vaikutuksesta astman kehittymiseen. Mahdollisia tutkimuskohteita on mm. rinoviruspotilaiden näytteiden rinovirusmäärän vaikutus sytokiinivasteisiin, rinovirus-alalajin vaikutus sytokiinivasteisiin ja potilaan iän vaikutus sytokiinivasteisiin. Tässä tutkielmassa keskityttiin ainoastaan yksittäisiin sytokiinivasteisiin. Tutkimusta voisi mahdollisesti jatkaa vielä selvittämällä, voidaanko tutkimusaineistosta havaita potilasryhmiä, joilla on tilastollisesti merkittäviä samankaltaisuuksia useamman sytokiinien vasteissa, esimerkiksi tavanomaista korkeampi tyypin 2 tulehdussytokiinipitoisuus ja matalampi proinflammatoristen sytokiinien pitoisuus.

## LÄHTEET

1. Peltola V, Jartti T, Putto-Laurila A, Mertsola J, Vainionpää R, Waris M, Hyypiä T, Ruuskanen O. Rhinovirus infections in children: a retrospective and prospective hospital-based study. *J Med Virol.* 2009 Oct;81(10):1831-8. doi: 10.1002/jmv.21590. PMID: 19697407; PMCID: PMC7166645.
2. Alahengitystieinfektiot (lapset). Käypä hoito -suositus. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin, Suomen Lastenlääkäriyhdistyksen ja Suomen Yleislääketieteen Yhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim, 2015 (viitattu 25.3.2021). Saatavilla internetissä: [www.kaypahoito.fi](http://www.kaypahoito.fi)
3. Koponen P, Helminen M, Paassilta M, Luukkaala T, Korppi M. Preschool asthma after bronchiolitis in infancy. *Eur Respir J.* 2012 Jan;39(1):76-80. doi: 10.1183/09031936.00040211. Epub 2011 Jun 23. PMID: 21700604.
4. Calışkan M, Bochkov YA, Kreiner-Møller E, Bønnelykke K, Stein MM, Du G, Bisgaard H, Jackson DJ, Gern JE, Lemanske RF Jr, Nicolae DL, Ober C. Rhinovirus wheezing illness and genetic risk of childhood-onset asthma. *N Engl J Med.* 2013 Apr 11;368(15):1398-407. doi: 10.1056/NEJMoa1211592. Epub 2013 Mar 27. PMID: 23534543; PMCID: PMC3755952.
5. Jartti T, Smits HH, Bønnelykke K, Bircan O, Elenius V, Konradsen JR, Maggina P, Makrinioti H, Stokholm J, Hedlin G, Papadopoulos N, Ruszczynski M, Ryczaj K, Schaub B, Schwarze J, Skevaki C, Stenberg-Hammar K, Feleszko W; EAACI Task Force on Clinical Practice Recommendations on Preschool Wheeze. Bronchiolitis needs a revisit:

- Distinguishing between virus entities and their treatments. *Allergy*. 2019 Jan;74(1):40-52. doi: 10.1111/all.13624. Epub 2018 Nov 25. PMID: 30276826; PMCID: PMC6587559.
6. Astma. Käypä hoito -suositus. Suomalaisen lääkäriseuran Duodecimin, Suomen keuhkolääkäriyhdistys ry:n, Suomen Lastenlääkäriyhdistys ry:n ja Suomen Kliinisen Fysiologian Yhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim, 2012 (viitattu 1.4.2021). Saatavilla internetissä: [www.kaypahoito.fi](http://www.kaypahoito.fi)
  7. Smyth RL, Openshaw PJ. Bronchiolitis. *Lancet*. 2006 Jul 22;368(9532):312-22. doi: 10.1016/S0140-6736(06)69077-6. PMID: 16860701.
  8. Ralston SL, Lieberthal AS, Meissner HC, Alverson BK, Baley JE, Gadomski AM, Johnson DW, Light MJ, Maraga NF, Mendonca EA, Phelan KJ, Zorc JJ, Stanko-Lopp D, Brown MA, Nathanson I, Rosenblum E, Sayles S 3rd, Hernandez-Cancio S; American Academy of Pediatrics. Clinical practice guideline: the diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis. *Pediatrics*. 2014 Nov;134(5):e1474-502. doi: 10.1542/peds.2014-2742. Erratum in: *Pediatrics*. 2015 Oct;136(4):782. PMID: 25349312.
  9. Immunologia -oppikirja. Duodecim, 2011.
  10. Bønnelykke K, Sleiman P, Nielsen K, Kreiner-Møller E, Mercader JM, Belgrave D, den Dekker HT, Husby A, Sevelsted A, Faura-Tellez G, Mortensen LJ, Paternoster L, Flaaten R, Mølgaard A, Smart DE, Thomsen PF, Rasmussen MA, Bonàs-Guarch S, Holst C, Nohr EA, Yadav R, March ME, Blicher T, Lackie PM, Jaddoe VW, Simpson A, Holloway JW, Duijts L, Custovic A, Davies DE, Torrents D, Gupta R, Hollegaard MV, Hougaard DM, Hakonarson H, Bisgaard H. A genome-wide association study identifies CDHR3 as a susceptibility locus for early childhood asthma with severe exacerbations. *Nat Genet*. 2014 Jan;46(1):51-5. doi: 10.1038/ng.2830. Epub 2013 Nov 17. PMID: 24241537.
  11. Arrieta MC, Stiemsma LT, Dimitriu PA, Thorson L, Russell S, Yurist-Doutsch S, Kuzeljevic B, Gold MJ, Britton HM, Lefebvre DL, Subbarao P, Mandhane P, Becker A, McNagny KM, Sears MR, Kollmann T; CHILD Study Investigators, Mohn WW, Turvey SE, Finlay BB. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci Transl Med*. 2015 Sep 30;7(307):307ra152. doi: 10.1126/scitranslmed.aab2271. PMID: 26424567.
  12. Kollmann TR, Crabtree J, Rein-Weston A, Blimkie D, Thommai F, Wang XY, Lavoie PM, Furlong J, Fortuno ES 3rd, Hajjar AM, Hawkins NR, Self SG, Wilson CB. Neonatal innate TLR-mediated responses are distinct from those of adults. *J Immunol*. 2009 Dec 1;183(11):7150-60. doi: 10.4049/jimmunol.0901481. Epub 2009 Nov 16. PMID: 19917677; PMCID: PMC4556237.
  13. Lester SN, Li K. Toll-like receptors in antiviral innate immunity. *J Mol Biol*. 2014 Mar 20;426(6):1246-64. doi: 10.1016/j.jmb.2013.11.024. Epub 2013 Dec 3. PMID: 24316048; PMCID: PMC3943763.
  14. Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*. 2011 May 27;34(5):637-50. doi: 10.1016/j.immuni.2011.05.006. PMID: 21616434.

15. Tissari J, Sirén J, Meri S, Julkunen I, Matikainen S. IFN-alpha enhances TLR3-mediated antiviral cytokine expression in human endothelial and epithelial cells by up-regulating TLR3 expression. *J Immunol*. 2005 Apr 1;174(7):4289-94. doi: 10.4049/jimmunol.174.7.4289. PMID: 15778392.
16. Esposito S, Molteni CG, Giliani S, Mazza C, Scala A, Tagliaferri L, Pelucchi C, Fossali E, Plebani A, Principi N. Toll-like receptor 3 gene polymorphisms and severity of pandemic A/H1N1/2009 influenza in otherwise healthy children. *Virol J*. 2012 Nov 15;9:270. doi: 10.1186/1743-422X-9-270. PMID: 23151015; PMCID: PMC3511245.
17. Guillot L, Le Goffic R, Bloch S, Escriou N, Akira S, Chignard M, Si-Tahar M. Involvement of toll-like receptor 3 in the immune response of lung epithelial cells to double-stranded RNA and influenza A virus. *J Biol Chem*. 2005 Feb 18;280(7):5571-80. doi: 10.1074/jbc.M410592200. Epub 2004 Dec 3. PMID: 15579900.
18. Perales-Linares R, Navas-Martin S. Toll-like receptor 3 in viral pathogenesis: friend or foe? *Immunology*. 2013 Oct;140(2):153-67. doi: 10.1111/imm.12143. PMID: 23909285; PMCID: PMC3784162.
19. Ullah MO, Sweet MJ, Mansell A, Kellie S, Kobe B. TRIF-dependent TLR signaling, its functions in host defense and inflammation, and its potential as a therapeutic target. *J Leukoc Biol*. 2016 Jul;100(1):27-45. doi: 10.1189/jlb.2RI1115-531R. Epub 2016 May 9. PMID: 27162325.
20. Bergroth E, Aakula M, Elenius V, Remes S, Piippo-Savolainen E, Korppi M, Piedra PA, Bochkov YA, Gern JE, Camargo CA Jr, Jartti T. Rhinovirus Type in Severe Bronchiolitis and the Development of Asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020 Feb;8(2):588-595.e4. doi: 10.1016/j.jaip.2019.08.043. Epub 2019 Sep 11. PMID: 31520837; PMCID: PMC7012669.
21. Jartti T, Lehtinen P, Vuorinen T, Ruuskanen O. Bronchiolitis: age and previous wheezing episodes are linked to viral etiology and atopic characteristics. *Pediatr Infect Dis J*. 2009 Apr;28(4):311-7. doi: 10.1097/INF.0b013e31818ee0c1. PMID: 19258922.
22. Drajac C, Laubretton D, Riffault S, Descamps D. Pulmonary Susceptibility of Neonates to Respiratory Syncytial Virus Infection: A Problem of Innate Immunity? *J Immunol Res*. 2017;2017:8734504. doi: 10.1155/2017/8734504. Epub 2017 Nov 9. PMID: 29250560; PMCID: PMC5700507.
23. Ralston SL, Lieberthal AS, Meissner HC, Alverson BK, Baley JE, Gadomski AM, Johnson DW, Light MJ, Maraqa NF, Mendonca EA, Phelan KJ, Zorc JJ, Stanko-Lopp D, Brown MA, Nathanson I, Rosenblum E, Sayles S 3rd, Hernandez-Cancio S; American Academy of Pediatrics. Clinical practice guideline: the diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis. *Pediatrics*. 2014 Nov;134(5):e1474-502. doi: 10.1542/peds.2014-2742. Erratum in: *Pediatrics*. 2015 Oct;136(4):782. PMID: 25349312.
24. de Almeida Nagata DE, Demoor T, Ptaschinski C, Ting HA, Jang S, Reed M, Mukherjee S, Lukacs NW. IL-27R-mediated regulation of IL-17 controls the development of respiratory



- syncytial virus-associated pathogenesis. *Am J Pathol.* 2014 Jun;184(6):1807-18. doi: 10.1016/j.ajpath.2014.02.004. Epub 2014 Apr 13. PMID: 24726498; PMCID: PMC4044717.
25. Jartti T, Gern JE. Role of viral infections in the development and exacerbation of asthma in children. *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Oct;140(4):895-906. doi: 10.1016/j.jaci.2017.08.003. PMID: 28987219; PMCID: PMC7172811.
26. Dumas O, Mansbach JM, Jartti T, Hasegawa K, Sullivan AF, Piedra PA, Camargo CA Jr. A clustering approach to identify severe bronchiolitis profiles in children. *Thorax.* 2016 Aug;71(8):712-8. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-208535. Epub 2016 Jun 23. PMID: 27339060; PMCID: PMC5036390.
27. Turunen R, Jartti T, Bochkov YA, Gern JE, Vuorinen T. Rhinovirus species and clinical characteristics in the first wheezing episode in children. *J Med Virol.* 2016 Dec;88(12):2059-2068. doi: 10.1002/jmv.24587. Epub 2016 Jun 2. PMID: 27232888; PMCID: PMC5140033.
28. Roh DE, Park SH, Choi HJ, Kim YH. Comparison of cytokine expression profiles in infants with a rhinovirus induced lower respiratory tract infection with or without wheezing: a comparison with respiratory syncytial virus. *Korean J Pediatr.* 2017 Sep;60(9):296-301. doi: 10.3345/kjp.2017.60.9.296. Epub 2017 Sep 21. PMID: 29042873; PMCID: PMC5638836.
29. Sykes A, Edwards MR, Macintyre J, del Rosario A, Bakhsoliani E, Trujillo-Torralbo MB, Kon OM, Mallia P, McHale M, Johnston SL. Rhinovirus 16-induced IFN- $\alpha$  and IFN- $\beta$  are deficient in bronchoalveolar lavage cells in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Jun;129(6):1506-1514.e6. doi: 10.1016/j.jaci.2012.03.044. PMID: 22657407.