

SAMENVATTING

Allergie is een ziekte die een substantieel deel van de bevolking treft, en waarvan die incidentie de afgelopen decennia fors is gestegen. Koemelkallergie (KMA) is een van de belangrijkste voedselallergieën tijdens de zuigelingen- en peuterleeftijd. Dit proefschrift gaat over patiënten met KMA en atopische dermatitis (AD), de belangrijkste uitingsvorm van KMA tijdens de kinderleeftijd. Het doel van dit proefschrift is om de rol van antigeenspecifieke T cellen bij het ontstaan van KMA en AD te bestuderen. Verder worden enkele *in-vivo* en *in-vitro* methoden om KMA te diagnosticeren geëvalueerd.

In **Hoofdstuk 1** wordt een algemene inleiding op KMA en AD op de kinderleeftijd gegeven. KMA speelt een pathogenetische rol in ongeveer eenderde van de zuigelingen met AD tijdens het eerste levensjaar. Zuigelingen KMA ontwikkelen spontaan klinische tolerantie voor koemelk (KM) binnen een relatief korte periode van 1-3 jaar. Bij allergie voor inhalatieallergenen worden Th2 cellen, die grote hoeveelheden van de cytokines: interleukine (IL)-4, IL-5 en IL-13 produceren, zeer belangrijk geacht in het ontstaan van de allergische reacties. Op dezelfde manier wordt T cel reactiviteit tegen de eiwitten in koemelk belangrijk geacht bij het ontstaan van KMA, echter dit is tot nu toe niet goed onderzocht.

Hoofdstuk 2 beschrijft de verschillen tussen de KM-specifieke T cel respons in bloed van zuigelingen met AD, met en zonder KMA. Met behulp van een antigeenspecifiek kweekstelsel dat gebruik maakt van autologe B cellen, werden KM-specifieke T cel klonen gekweekt uit bloed. De resultaten laten zien dat T cellen, specifiek voor de eiwitten in koemelk, aanwezig zijn in het bloed van zuigelingen met AD, onafhankelijk van het feit of ze KMA hebben. Analyse van de cytokine productie laat zien dat deze cellen een 'Th2-achtige' cytokine productie hebben; dwz een hoge productie van IL-4, IL-5 en IL-13. Zuigelingen zonder KMA hebben daarentegen een respons die Th1-achtig is, dwz een hoge productie van interferon (IFN)- γ en een lage productie van de Th2-cytokines.

In **Hoofdstuk 3** worden zuigelingen onderzocht, die geen atopische predispositie, en geen allergische ziekten hebben. De resultaten laten zien dat deze kinderen een T cel respons hebben, gericht tegen de belangrijkste eiwitten in KM. Deze cellen produceren een gebalanceerde, Th0-achtig cytokine patroon, dwz een gelijke productie 'Th1-' en 'Th2-cytokines'. De vergelijking met de T cellen die beschreven zijn in **Hoofdstuk 2** benadrukt dit Th0-achtige cytokine patroon, en de lage productie van de Th2-cytokines. Dit suggereert dat tolerantie voor melk in normale personen niet veroorzaakt wordt door een afwezigheid van circulerende, KM-specifieke T cellen,

maar, net als bij mensen met een atopische predispositie, waarschijnlijk veroorzaakt wordt door de lage productie van Th2-cytokines door deze cellen.

Hoofdstuk 4 onderzoekt de veranderingen die optreden in de KM-specifieke T cel respons tijdens de spontane ontwikkeling van tolerantie voor KM bij zuigelingen

Samenvatting

met KMA en AD. De resultaten laten zien dat KM-specifieke T cellen nog steeds aanwezig zijn in het bloed van patiënten met KMA die klinisch tolerant geworden zijn voor KM-eiwitten. De productie van de Th2-cytokines door deze cellen is echter lager dan tijdens de (KM)allergische fase, terwijl de productie van IFN- γ is gestegen. Dit resulteert in een Th1-achtig patroon. Deze resultaten benadrukken de belangrijke rol van antigeenspecifieke (Th2) cytokine productie bij het ontstaan van allergische reacties op KM-eiwitten.

In **Hoofdstuk 5** wordt de expressie van verschillende celmembraaneiwitten op T cellen onderzocht. De resultaten laten zien dat de expressie van de activatie-‘markers’ CD25 en CD30 door KM-specifieke T cellen significant hoger is bij zuigelingen met KMA, wat suggereert dat de activatiestatus van deze cellen hoger is. Na het ontstaan van klinische tolerantie voor KM-eiwitten daalt de expressie van deze activatie-‘markers’, wat suggereert dat de KM-specifieke T cel reactiviteit afneemt. Vergelijking van de expressie van de membraan-eiwitten CD26 en CD30 met de productie van IL-4 en IFN- γ bevestigt eerdere studies die lieten zien dat, op het niveau van de individuele T cel, de expressie van CD26 en CD30 niet gebruikt kan worden om Th1- en Th2-cellen te onderscheiden.

In **Hoofdstuk 6** worden KM-specifieke T cellen in bloed en huid onderzocht, en vergeleken mbt de expressie van 'cutaneous lymphocyte antigen' (CLA), de huidspecifieke 'homing-marker'. De resultaten laten zien dat de expressie van CLA door KM-specifieke T cellen in bloed van patiënten met KMA en AD vergelijkbaar is met T cellen van patiënten zonder KMA. Dit suggereert dat het vermogen van T cellen in bloed van allergische en niet-allergische patiënten om specifiek naar de huid te 'homen' niet essentieel verschillend is. De analyse van T cellen in de huid van patiënten met AD laat echter zien dat expressie van CLA door deze cellen significant hoger is dan T cellen in bloed van deze patiënten. Dit suggereert dat het niveau van expressie van CLA belangrijk zou kunnen zijn voor het achterblijven van allergeenspecifieke T cellen in de huid.

Hoofdstuk 7 evalueert de screening op voedsel-specifieke sensibilisatie mbv *in vitro* IgE-detectie en huidprik testen bij zuigelingen en kinderen. De resultaten laten een substantiële 'mismatch' zien tussen de uitkomst van beide testen bij het screenen op voedsel-specifieke sensibilisatie bij zuigelingen en kinderen met de verdenking op voedselallergie. Dit geeft aan dat de screening op voedsel-specifieke sensibilisatie op de kinderleeftijd gedaan zou moeten worden gebruik makend van beide testen, om foutnegatieve uitkomsten te voorkomen.

Hoofdstuk 8 beschrijft een nieuw protocol voor een dubbelblinde, placebogecontroleerde koemelkprovocatie dat gebruikt kan worden om, in een alledaagse pediatrische kliniek, 'immediate-type' allergische reacties op koemelk te diagnosticeren bij zuigelingen en kinderen. De ervaringen met dit protocol, in een cohort van 154 kinderen die verwezen werden naar de polikliniek voedselallergie van het Universitair Medisch Centrum in Utrecht, laten zien dat het mogelijk is om routinematig geblindeerde provocaties te verrichten bij kinderen met de verdenking

op KMA. Dit suggereert dat dubbelblinde provocaties geïmplementeerd moeten worden in de alledaagse pediatrische praktijk, wat inaccurate diagnostiek en onnodige eliminatiediëten zou kunnen voorkomen.

Tot slot, **Hoofdstuk 9** is een algemene discussie die de onderzoeksgegevens over de KM-specifieke T cellen samenvat, en bediscussieert. In dit hoofdstuk wordt een model gepresenteerd dat de postnatale ontwikkeling van de T cel respons tegen koemelk in atopische en niet-atopische personen beschrijft. Met name op de zuigelingenleeftijd zijn er duidelijke verschillen tussen de KM-specifieke T cel respons van atopische en niet-atopische personen, vooral met betrekking tot cytokine productie. Dit suggereert dat de mechanismen die de T cel respons tegen melk reguleren zeer belangrijk zijn voor het ontstaan van klinische tolerantie voor koemelkeiwitten. Toekomstige studies moeten daarom gericht worden op het ophelderen van deze mechanismen. Dit kan richting geven aan de ontwikkeling van therapeutische en preventieve strategieën voor allergie tegen koemelkeiwitten.