



# Diagnosis, characterization and management of food allergy: *a tough (wal)nut to crack*

M.A. Blankestijn

Op 12 december 2017 promoveerde Mark Blankestijn aan de Universiteit Utrecht op het proefschrift *Diagnosis, characterization and management of food allergy: a tough (wal)nut to crack*. Zijn promotoren waren prof. dr. A.C. (André) Knulst en prof. dr. G.F. (Geert) Houben. Zijn copromotoren waren dr. H.G. (Henny) Otten en dr. R.J.B. (Rob) Klemans.



*Professor André Knulst overhandigt de bul aan Mark Blankestijn.*

## BELANGRIJKSTE BEVINDINGEN

In dit proefschrift worden verschillende aspecten van voedselallergie bij volwassenen besproken, primair gericht op walnootallergie. De belangrijkste bevindingen worden hieronder toegelicht.

### Deel I – Diagnostiek en drempelwaarden bij walnootallergie

- Drempelwaarden bij walnootallergische volwassenen laten zien dat walnoot een potent allergeen is, met drempelwaarden vergelijkbaar met hazelnoot.

- Walnoot 2S albumine Jug r 1 is het dominante walnootallergeen in onze walnootallergische populatie. Het heeft een vergelijkbare waarde bij het diagnosticeren van een walnootallergie als walnootextract.
- Walnoot 11S globuline Jug r 4 wordt herkend door een kleine groep walnootallergische personen. Het hebben van specifiek IgE tegen Jug r 4 is sterk geassocieerd met het hebben van een walnootallergie.

Aios dermatologie, afdeling Dermatologie/Allergologie, UMC Utrecht

## Deel II – Cosensibilisatie en eiwitfamilies bij voedselallergie

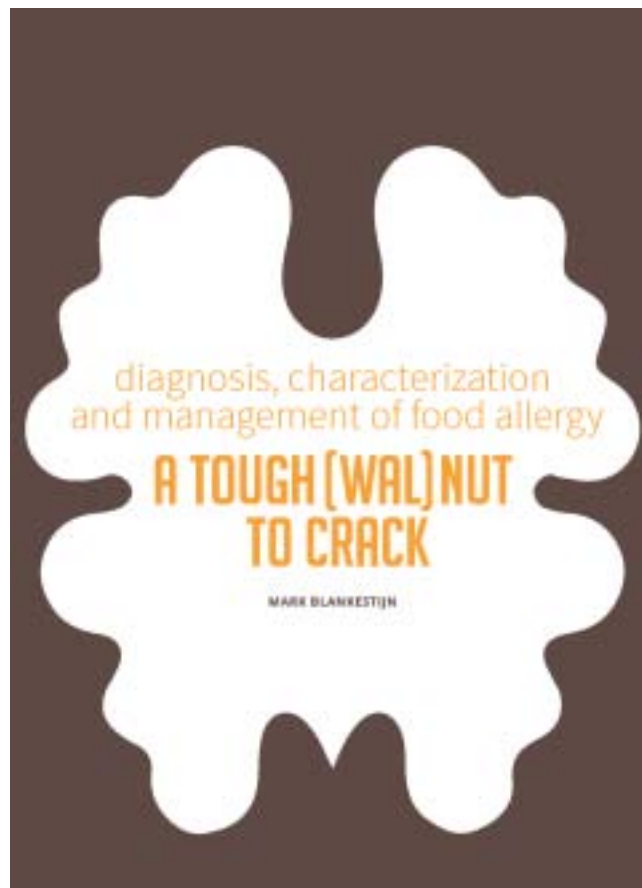
- Sensibilisatie voor pecannoot en hazelnoot komt vaak voor bij walnootallergische volwassenen, maar is mogelijk niet altijd klinisch relevant. Het nauwkeurig in kaart brengen van een eventuele allergie voor andere noten zou onnodig vermijden ervan kunnen voorkomen en zou het dieet van personen met een notenallergie kunnen uitbreiden.
- In pindageprovoceerde volwassenen is specifiek IgE (sIgE) tegen pinda 2S albumine Ara h 7 net zo onderscheidend voor pinda-allergie als sIgE tegen Ara h 2 en 6. Monosensibilisatie voor Ara h 2, 6 of 7 komt voor in een kleine subgroep waardoor een risico bestaat op een verkeerde diagnose als alleen getest wordt voor een enkel 2S albumine.
- Multiplex IgE-testen van volwassenen met een verdenking op voedselallergie tonen aan dat sensibilisatie voor berkenpollen gerelateerde PR-10-eiwitten kan voorkomen met verschillende fenotypen. Sensibilisatie voor minder frequent herkende PR-10-eiwitten lijken een uiting te zijn van brede polysensibilisatie voor inhalatie- en voedselcomponenten.

## Deel III – Nieuwe behandelopties voor allergische ziekten

Behandeling met daratumumab resulteerde in een afname van totaal en specifiek IgE bij een patiënt die werd behandeld voor multipel myeloom en zou daarom verder onderzocht kunnen worden als potentiële behandeloptie voor IgE-gemedieerde allergische ziekten.

## DIAGNOSTIEK EN DREMPELWAARDEN

De 'gewone' walnoot, in het Nederlands ook wel okkernoot genoemd, is de vrucht van de walnotenboom (*Juglans regia*). Net als andere noten moet walnoot vermeld worden op etiketten van verpakte voedingsmiddelen als het als ingrediënt wordt gebruikt. Dit sluit echter niet uit dat walnoot onbedoeld terecht kan komen in voedingsmiddelen. Op dit moment is er geen regelgeving die bepaalt wanneer waarschuwingen zoals "kan sporen bevatten van" op verpakkingen noodzakelijk zijn. Om het risicomanagement en de regelgeving voor etikettering te verbeteren en te onderbouwen met wetenschappelijke data, wordt er onderzoek gedaan naar drempelwaarden (*eliciting doses* [ED]) voor het optreden van allergische klachten op een voedingsmiddel, op populatieniveau. Voor onder andere pinda en hazelnoot zijn er drempelwaarden vastgesteld, maar voor walnoot waren deze data nog onvoldoende beschikbaar. In **hoofdstuk 2** hebben wij daarom drempelwaarden vastgesteld in een groep walnootallergische volwassenen. Hiervoor werden patiënten van de polikliniek Dermatologie/Allergologie van het UMC Utrecht met een verdenking op walnootallergie op basis van de anamnese geïncludeerd en geprovoceerd met walnoot met behulp van een dubbelblinde placebogecontroleerde voedselprovocatie. Bij 20 van de 33 positieve provocaties traden er objectieve symptomen op, zoals urticaria, braken/diarree en/of piepende ademhaling. Bij de overige 13 positieve provocaties traden alleen subjectieve symptomen op, zoals jeuk of tinteling in de mond, misselijkheid en/of buikpijn. Door gebruik te maken van statistische modellen werden de ED<sub>5</sub>, ED<sub>10</sub> en ED<sub>50</sub> berekend; de voorspelde hoeveelheid allergeen (eiwit) waarop een allergische reactie optreedt bij respectievelijk 5, 10 en 50% van de populatie. Voor walnoot



varieerden deze waarden, afhankelijk van welk model gebruikt werd, van 3,1 tot 4,1 mg voor de ED<sub>5</sub>, 10,6 tot 14,6 mg voor de ED<sub>10</sub> en van 590 tot 625 mg voor de ED<sub>50</sub>. Deze waarden lagen net iets hoger dan die voor hazelnoot (respectievelijk 1,2 tot 2,6; 5,2 tot 7,9 en 218 tot 275 mg), wat aangeeft dat de walnoot-allergische patiëntenpopulatie niet gevoeliger is voor het krijgen van een allergische reactie dan de hazelnootallergische patiëntenpopulatie. Samen met de beperkte beschikbare data voor andere noten, houdt dit in dat de EDs voor hazelnoot mogelijk te gebruiken zijn als conservatieve drempelwaarden voor alle noten.

De diagnostiek van een voedselallergie bestaat uit anamnese en sensibilisatietesten, waaronder huid- en bloedtesten. Bij een dergelijke bloedtest wordt specifiek IgE (sIgE) tegen extracten van voedingsmiddelen bepaald. Een extract bestaat uit veel verschillende, deels relevante, eiwitten. Tegenwoordig kan ook sIgE worden bepaald tegen individuele allergene eiwitten (componenten), ook wel *component-resolved diagnostics* (CRD) genoemd. De waarde van het bepalen van sIgE tegen walnootcomponenten in het diagnosticeren van een walnoot-allergie was echter nog onvoldoende onderzocht. In **hoofdstuk 3** werd bij 55 patiënten met een verdenking op walnootallergie de waarde van de huidtest en sIgE-testen voor walnoot onderzocht. Een walnootallergie werd aangetoond of uitgesloten door middel van de 'gouden standaard'-test, de dubbelblinde placebogecontroleerde voedselprovocatie. Op basis van de provocatie waren 33 patiënten walnootallergisch en 22 tolerant.

Walnooteiwit Jug r 1, behorende tot de opslageiwitten van het 2S albuminetype, was het meest herkende en best voorspellende component voor walnootallergie. Het gebruik van extracten voor SPT- of sIgE-bepaling had echter een vergelijkbare voorspellende waarde. Het bepalen van sIgE tegen Jug r 1 had daarbij geen toegevoegde waarde.

Van de 33 walnootallergische patiënten waren 11 niet gesensibiliseerd voor een van de commercieel verkrijgbare componenten Jug r 1, 2 en 3. Er zijn echter meer walnootallergenen gekarakteriseerd, waaronder Jug r 4, een opslageiwit van het 11S globulintype. Bij hazelnoot- en cashewnootallergie zijn 11S globulines belangrijke allergenen. Daarom hebben wij in **hoofdstuk 4** de rol van sensibilisatie voor Jug r 4 onderzocht. Sera van 8 walnootallergische patiënten werden gescreend op sensibilisatie voor eiwitten uit walnootextracten door middel van immunoblots en LC-MS-analyse van uitgesneden eiwitbanden. Dit toonde de aanwezigheid van specifiek IgE tegen Jug r 4 aan. In de hele groep van 55 walnootgeprovoceerde patiënten onderzochten wij vervolgens de waarde van Jug r 4-sensibilisatie voor het diagnosticeren van een walnootallergie. Naast immunoblots met natuurlijk gezuiverd (n)Jug r 4, werd gebruikgemaakt van lijnblots met recombinant (r)Jug r 4. 10 van 55 patiënten bleken gesensibiliseerd voor rJug r 4 en 5 voor nJug r 4. Deze 5 waren ook gesensibiliseerd voor rJug r 4. Alle 10 rJug r 4-gesensibiliseerde patiënten waren echter ook gesensibiliseerd voor Jug r 1 en 1 voor Jug r 3, waardoor het bepalen van sIgE tegen Jug r 4 op dit moment geen toegevoegde waarde heeft. Gezien het feit dat 9 van de 10 rJug r 4-gesensibiliseerde patiënten een positieve provocatie hadden, lijkt sensibilisatie voor Jug r 4 een hoge positieve voorspellende waarde te hebben.

### COSENSIBILISATIE BIJ VOEDSELALLERGIE

In **hoofdstuk 5** onderzochten wij de mate van cosensibilisatie en gerapporteerde klachten voor andere noten en pinda in onze populatie van 33 walnootallergische volwassenen. Voor pecannoot en hazelnoot werden de meeste klachten gerapporteerd. Sensibilisatie werd ook voor deze twee noten het meest frequent gezien. Er werd een sterke correlatie gevonden tussen walnoot en pecannoot sIgE- en SPT-waarden. Dat kan verklaard worden door de nauwe biologische verwantschap tussen deze noten. Twee walnootallergische patiënten gaven aan dat ze pecannoot konden verdragen. De meerderheid (55%) van de walnootallergische patiënten gaf aan minimaal twee andere noten te kunnen eten zonder klachten. Dit geeft aan dat het goed in kaart brengen van andere noten bij een notenallergie ervoor kan zorgen dat sommige notensoorten mogelijk nog gegeten kunnen worden.

In de diagnostiek van pinda-allergie wordt het testen op componenten al veel toegepast. Sensibilisatie voor pinda 2S albumines Ara h 2 en 6 is een goede voorspeller voor een pinda-allergie. In **hoofdstuk 6** onderzochten wij de diagnostische waarde van een derde 2S albumine, Ara h 7. In een groep van 40 pinda-allergische en 40 pindatolerante patiënten had Ara h 7, en specifiek de Ara h 7.0201 isoform, een onderscheidend vermogen zeer vergelijkbaar met Ara h 2 en 6. Inhibitie-

experimenten toonden aan dat Ara h 7 naast epitopen kruisreactief met die van Ara h 2 en 6 ook unieke IgE-epitopen bevat. Hoewel cosensibilisatie tussen zowel Ara h 2, 6 en 7 het meest voorkomt en een hoge voorspellende waarde heeft voor een pinda-allergie, komt monosensibilisatie voor zowel Ara h 2, 6 als 7 ook voor, waardoor er een risico bestaat op een onjuiste diagnose wanneer getest wordt op één enkel component.

In de routinediagnostiek wordt regelmatig gebruikgemaakt van een multiplex CRD-test, waarmee sIgE tegen 112 verschillende componenten uit onder andere pollen en voedsel aangetoond kan worden. Met de data, gegenereerd in 305 patiënten, was het mogelijk om sensibilisatiepatronen te analyseren. In **hoofdstuk 7** analyseerden we sensibilisatie voor componenten uit plantaardig voedsel en patronen in (co)sensibilisatie voor componenten en de eiwitfamilies waartoe ze behoren, vooral gericht op de berkenpollengerelateerde PR-10-eiwitten en de opslageiwitten. Wij vonden dat sensibilisatie voor PR-10-eiwitten voorkwam bij 74% van de populatie. Binnen de PR-10-eiwitten waren er patiënten gesensibiliseerd voor voedselcomponenten zonder sensibilisatie voor PR-10-eiwitten uit pollen, mogelijk door directe sensibilisatie voor het PR-10-eiwit uit voedsel. Daarnaast was sensibilisatie voor bepaalde minder vaak herkende PR-10-eiwitten, zoals uit selderij, soja en kiwi, geassocieerd met polysensibilisatie voor voedsel- en inhalatiecomponenten (zoals pollen, dieren en huisstofmijt). Deze bevindingen wijzen op variatie binnen de groep PR-10-gesensibiliseerde patiënten.

### NIEUWE BEHANDELOPTIES

De behandeling van voedselallergie is op dit moment beperkt tot het vermijden van de allergenen die allergische reacties veroorzaken en het behandelen van de symptomen van een allergische reactie. Onderzoek naar het gebruik van anti-IgE (omalizumab) in de behandeling van voedselallergie – om IgE als belangrijke antistof bij allergie in het lichaam te verminderen – laat alleen een beperking zien van de bijwerkingen van immunotherapie. Een andere potentiële manier om IgE te verminderen is het verwijderen van de cellen die IgE produceren; de plasmacellen. In **hoofdstuk 8** onderzochten we of daratumumab, een nieuw medicijn in de behandeling van multipel myeloom, dat gericht is tegen maligne plasmacellen, maar ook het aantal benigne plasmacellen doet afnemen, resulteert in een daling van IgE-waarden. Van de acht onderzochte patiënten was er één gesensibiliseerd voor gras en huisstofmijt en in deze patiënt werd over de loop van twintig weken een daling van meer dan 80% gezien in zowel totaal als specifiek IgE. Deze bevinding is reden om verder onderzoek te doen naar het mogelijke gebruik van daratumumab bij zeer ernstige allergieën.

---

### CORRESPONDENTIEADRES

Mark Blankestijn

E-mail: [m.a.blankestijn@umcutrecht.nl](mailto:m.a.blankestijn@umcutrecht.nl)