



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Gut microbial metabolomics to understand allergies in early life

Savova, M.V.

Citation

Savova, M. V. (2026, March 17). *Gut microbial metabolomics to understand allergies in early life*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4297014>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4297014>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting

De toename van de incidentie van allergieën, met name in Westerse landen, is een groeiende zorg, aangezien allergieën de kwaliteit van leven aanzienlijk kunnen verminderen en in ernstige gevallen levensbedreigend kunnen zijn. Aan de basis van allergieën ligt een verstoring van de immuuntolerantie: het onvermogen van het immuunsysteem om adequaat te reageren op onschadelijke omgevingsantigenen. Er zijn verschillende hypothesen voorgesteld om de toename van allergieën in Westerse landen te verklaren, waarvan een leidende hypothese stelt dat verminderde blootstelling aan microben kan leiden tot een slecht getraind immuunsysteem dat vriend en vijand niet goed kan onderscheiden. Dit resulteert in allergische sensibilisatie en dus allergieën.

Onze darmen bevatten een groot deel van de immuuncellen van het lichaam en herbergen een van de grootste microbiële ecosystemen, bestaande uit triljoenen micro-organismen. De kolonisatie van de darmmicrobiota vindt snel plaats in de vroege levensfase, vooral tijdens het eerste levensjaar, waarna het darmmicrobioom (DM) rond de leeftijd van drie jaar begint te lijken op dat van een volwassene. Dit proces wordt beïnvloed door verschillende factoren, waaronder de wijze van geboorte (vaginale geboorte versus keizersnede), blootstelling aan antibiotica en voeding. Borstvoeding bevordert bijvoorbeeld een DM dat rijk is aan bifidobacteriën, dat de suikers in moedermelk benut en een cruciale rol speelt in de ontwikkeling van het immuunsysteem tijdens de vroege levensfase.

Verstoring van de samenstelling van de darmmicrobiota in de vroege levensfase, in het bijzonder een vermindering van bifidobacteriën, is in verband gebracht met immuungemedieerde ziekten, waaronder allergieën. Daardoor worden de eerste drie levensjaren vaak gezien als een kritieke periode waarin verstoringen van het DM kunnen leiden tot ziekte, maar ook als een venster van mogelijkheden waarin de dynamische aard van het DM kan worden benut om ziekten zoals allergieën te voorkomen of te behandelen. Toch bestaat er een aanzienlijke kenniskloof in het begrijpen van de relatie tussen het DM en allergieën, en hoe microbiële interventies kunnen worden ingezet voor allergiemanagement. Aangezien het DM de fysiologie van de gastheer beïnvloedt via de productie van diverse metabolieten, kunnen deze kleine moleculen directe mechanistische inzichten bieden in de interacties tussen gastheer en DM. Deze metabolieten kunnen niet-invasief worden gemeten in fecesmonsters met behulp van vloeistofchromatografie–massaspectrometrie.

Dit onderzoek is gebaseerd op de hypothese dat het DM in de vroege levensfase de ontwikkeling en het verdwijnen van allergieën beïnvloedt via de productie van metabolieten, en dat metabolomics kan worden gebruikt om de functie van het DM te bestuderen. Het doel van dit onderzoek is het bestuderen van de verbanden tussen allergie en darmgezondheid, het DM en externe factoren door het verkennen van het metabooloom in longitudinale klinische studies en in vitro-modellen.

Hoofdstuk 2 geeft een uitgebreid overzicht van de huidige kennis over de rol van het DM in de meest voorkomende voedselallergie in de vroege levensfase: IgE-gemedieerde koemelkallergie (KMA). Het overzichtsartikel toont aan dat IgE-gemedieerde KMA consequent geassocieerd is met een vermindering van *Bifidobacterium*-soorten, en dat probiotische *Bifidobacterium*-interventies effectief de groei van bifidobacteriën in de darm stimuleren. Daarnaast benadrukt het hoofdstuk dat onderzoek in dit veld voornamelijk gericht was op compositieanalyse van de microbiota, terwijl slechts een beperkt aantal studies het metabooloom onderzocht, en geen enkele zich heeft gericht op andere omics-lagen, zoals proteomics. Verder was metabolomics-onderzoek beperkt door de smalle focus op voornamelijk korteketenvezuren (KVK's), aminozuren en organische zuren. Het overzichtsartikel benadrukt de dringende noodzaak om een breder scala aan door de microbiota geproduceerde metabolieten te analyseren, om de interactie tussen microbiom en gastheer beter te begrijpen. Daarnaast wordt het belang van multi-omicsbenaderingen sterk benadrukt om mechanistische inzichten te verkrijgen in de relatie tussen het DM en KMA in de vroege levensfase.

Hoofdstuk 3 en 4 gaan in op de beperkte metabolomische reikwijdte in de literatuur door een breed spectrum van door de gastheer- en microbiota geproduceerde metabolieten te onderzoeken, waaronder metabolen van microbiële aminozuurmetabolieten, galzuren en KVK's.

In **Hoofdstuk 3** werden zuigelingen met een verhoogd risico op allergieën – die gedurende minstens 16 weken uitsluitend borstvoeding kregen – gevolgd tijdens het eerste levensjaar, een periode van snelle microbiële kolonisatie en mogelijke start van de atopische mars. Veranderingen in het fecale metabooloom en belangrijke leden van de microbiota werden onderzocht in relatie tot leeftijd, voeding, geboortewijze en allergieontwikkeling. De resultaten lieten significante leeftijdsgebonden verschuivingen in het metabooloom zien, waarschijnlijk veroorzaakt door gelijktijdige veranderingen in het metabolisme van de gastheer, voedingspatronen en de microbiotasamenstelling. Deze omvatten stijgingen in aminozuurmetabolieten, galzuren, B-vitaminen, 'KVK's en fenolzuren, evenals dalingen in langeketenvetzuren en acylcarnitines. C-sectie werd geassocieerd met veranderingen in het fecale metabooloom tot zes maanden leeftijd. Door het prospectieve karakter van de studie kon worden vastgesteld dat zuigelingen die een allergie ontwikkelden lagere niveaus van *Bifidobacterium* en aanzienlijk hogere niveaus van langeketenvetzuren hadden, nog vóór het klinisch optreden van symptomen. Hoewel deze bevindingen validatie behoeven in een grotere cohort, vergroot de studie ons begrip van de ontwikkeling van het fecale metabooloom in de vroege levensfase en de factoren die hierop van invloed zijn tijdens deze kritieke periode van immuun- en microbiomontwikkeling.

IgE-gemedieerde KMA wordt meestal behandeld met eliminatiediëten, waaronder het gebruik van aminozuurvoeding bij zuigelingen die flesvoeding krijgen. Gezien het toenemende bewijs voor de gunstige rol van *Bifidobacterium* bij de immuunontwikkeling en hun associatie met allergieën (aangetoond in **Hoofdstukken 2 en 3**), is bifidogene

suppletie van aminozuurvoeding naar voren gekomen als een veelbelovende strategie in de behandeling van IgE-gemedieerde KMA.

Hoofdstuk 4 onderzoekt de relatie tussen IgE-gemedieerde KMA, het DM en bifidobacterie-bevorderende synbiotische suppletie aan de hand van fecale metabolomics. Zuigelingen met IgE-gemedieerde KMA ontvingen ofwel standaard aminozuurvoeding, of aminozuurvoeding gesupplementeerd met een synbiotische combinatie van *Bifidobacterium breve* M-16V en prebiotische inuline en oligofructose. De longitudinale analyse toonde subtiele metabolomische veranderingen aan die verband hielden met het verkrijgen van tolerantie voor koemelkeiwit, waaronder veranderingen in vertakte KVK's, galzuren en aminozuren. Zuigelingen die tolerantie verwierven vertoonden aanzienlijk hogere citrullinespiegels, wat duidt op een verminderde darmpermeabiliteit, en mogelijk lagere serotonine en 5-hydroxytryptofaanniveaus, beide betrokken bij ontsteking.

Een belangrijke bevinding is dat het effect van synbiotische suppletie op het fecale metaboloom het sterkst was na zes maanden interventie, en grotendeels afnam na twaalf maanden, wat suggereert dat vroege interventie essentieel is om het maximale effect te verkrijgen. Synbiotische suppletie leidde tot verhoogde niveaus van aromatische melkzuren, purinemetabolieten, langeketenvezuren en galzuren, wat veranderingen in GM-activiteit weerspiegelt. Vooral indoolmelkzuur en 4-hydroxyfenylmelkzuur, aromatische aminozuurmetabolieten die kenmerkend zijn voor zuigelingstype *Bifidobacterium*, waren verhoogd en positief gecorreleerd met *Bifidobacterium*-abundanties. Deze bevindingen sluiten aan bij de microbiom- en proteomicsresultaten uit dezelfde cohort en ondersteunen verder de effectiviteit van de synbiotische interventie in het bevorderen van de groei en activiteit van *Bifidobacterium* in de darm. Hoewel de synbiotische suppletie geen statistisch significant effect had op het verkrijgen van tolerantie, wijst de toename van anti-inflammatoir indoolmelkzuur op mogelijke immunologische voordelen.

Hoofdstuk 5 richt zich op 3D-gut-on-a-chipplatforms, veelbelovende in vitro-modellen die belangrijke aspecten van de darmfysiologie nabootsen. Deze modellen kunnen worden gebruikt om de darmbarrière te bestuderen, waarvan disfunctie een rol speelt in diverse ziekten, waaronder allergieën. Met behulp van een epitheel-tubuli-op-een-chipmodel toont dit hoofdstuk aan hoe blootstelling aan pro-inflammatoire cytokinen de integriteit van de darmbarrière en de secretie van signalerende lipiden beïnvloedt onder media met en zonder serum. Pro-inflammatoire cytokinen verhoogden significant de darmpermeabiliteit, celpermeabiliteit en veroorzaakten structurele veranderingen in de darmbarrière in beide mediaomstandigheden. Hoewel de veranderingen in permeabiliteit vergelijkbaar waren tussen beide condities, was de structurele schade — beoordeeld via actineherschikking — aanzienlijk lager in serumvrije omstandigheden. De aangetaste darmbarrière ging gepaard met verhoogde prostaglandinespiegels in het apicale (luminale) compartiment, maar niet in het basolaterale compartiment, waarbij dit effect sterker was in serumvrije media. Het geïntegreerde model biedt een waardevol raamwerk om de interactie tussen ontsteking,

barrièrefunctie en lipidenmetabolisme in intestinale pathofysiologie te bestuderen, wat ook relevant is voor allergieonderzoek.

Hoofdstuk 6 vat de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift samen en bespreekt perspectieven voor toekomstig onderzoek. Door middel van fecale metabolomics en *in vitro*-modellen heeft dit proefschrift ons begrip verdiept van de complexe interacties tussen allergie en darmgezondheid, het GM en externe factoren. De onderzoekswereld zou sterk gebaat zijn bij goed opgezette, longitudinale klinische studies die multi-omicsbenaderingen en geavanceerde fysiologisch relevante *in vitro*-modellen combineren. Daarnaast moeten alternatieve strategieën voor allergiepreventie en -behandeling worden onderzocht die het darmmilieu van gezonde, borstgevoede zuigelingen nabootsen. Dergelijke inspanningen vereisen multidisciplinaire samenwerking, en kunnen uiteindelijk de weg vrijmaken voor microbiom-gebaseerde voedingsstrategieën om allergieën te voorkomen en te behandelen.