

## Diseño, obtención y transferencia de material biológico para detección del gluten en alimentos y diagnóstico de celiaquía.

La enfermedad celíaca es una enteropatía mediada por el sistema inmunitario en reacción al consumo del gluten en personas predisuestas genéticamente. La reacción inmunitaria se produce frente a péptidos inmunotóxicos contenidos en proteínas del gluten que se encuentran en los cereales (trigo, cebada, centeno, avena). El péptido de 33 aminoácidos de la gliadina alfa-2, denominado *glia33*, es el principal causante de la inmunotoxicidad del gluten. Cuando el gluten se ingiere y alcanza el tracto gastrointestinal se fragmenta en péptidos de pequeño tamaño los cuales son resistentes a la digestión por lo que pasan a pared de la mucosa intestinal dando origen a la enteropatía celíaca. Así, una dieta sin gluten es la primera terapia habitual para los pacientes con enfermedad celíaca. Por lo tanto, la caracterización y cuantificación de la porción tóxica del gluten en los alimentos es crucial para evitar su ingesta y consecuentemente el daño celíaco. Además del cumplimiento de la dieta sin gluten, el Ministerio de Sanidad establece la necesidad de realizar un seguimiento clínico de los pacientes celíacos, con el objetivo de vigilar y valorar su evolución. También indica que en aquellos pacientes en los que persiste la sintomatología, a pesar de llevar una dieta libre de gluten, es necesario llevar a cabo una búsqueda activa de fuentes ocultas de gluten en la dieta o de mínimas transgresiones de toma de gluten. Durante décadas, la única forma de evaluar la adherencia a la dieta sin gluten era una biopsia que resulta invasiva, molesta y cara, o un test serológico que, frecuentemente, conducía a la obtención de falsos positivos y negativos. Dado que estos péptidos tóxicos se excretan por la orina y/o heces su detección en estas muestras biológicas es una evidencia directa de la ingesta de gluten.

Los grupos de investigación del IPBLN - CSIC dirigidos por los Dres Manuel Carlos López y M<sup>a</sup> Carmen Thomas han realizado el diseño y obtención de los anticuerpos monoclonales G12 y A1 dirigidos frente a distintos fragmentos del péptido inmunotóxico *glia33* causante de la celiaquía. Su alta sensibilidad y especificidad para la detección de dicha prolamina del trigo, cebada, centeno y avena les confiere una especial relevancia como herramienta para la detección de gluten en alimentos y para monitorear las modificaciones del péptido por transglutaminasa 2 o glutenasas. Además, los mencionados anticuerpos monoclonales no muestran tener reacción cruzada con soja, arroz o maíz. Los anticuerpos G12 y A1 son idóneos para obtener resultados cuantitativos de la presencia de gluten con alta sensibilidad en alimentos pues muestran un límite de detección de 3 ppm (un alimento se considera "sin" gluten con < 20 ppm). G12 y A1 también reconocen secuencias de péptidos inmunogénicos en otras gliadinas (omega, alfa, gamma y beta) y gluteinas del trigo, cebada y centeno. Así, el péptido más inmunogénico responsable del 80-95% de la inmunoreactividad de las células T de los celíacos es detectado con alta sensibilidad con el anticuerpo G12.

La licencia de explotación de este material biológico desde el CSIC a las empresas biotecnológicas Biomedal SL e Hygiena SL ha posibilitado el desarrollo de diferentes kits de diagnóstico capaces de detectar gluten en productos alimenticios (alimentos y bebidas), muestras hidrolizadas tales como la cerveza, así como para el control de la contaminación por trazas de gluten en alimentos y superficies de trabajo. Los kits basados en los anticuerpos G12 y A1 desarrollados por las citadas empresas posibilitan el control de la dieta sin gluten en casa, centro de diagnóstico o empresa alimentaria. Además, algunos de los productos generados a partir de los mencionados anticuerpos monoclonales detectan los péptidos tóxicos del gluten en la orina y heces, siendo los primeros kits de este tipo disponibles en el mercado. El desarrollo por las citadas empresas, basado en G12 y A1, de nuevos sistemas de diagnóstico para la detección de presencia de gluten en todo tipo de productos alimentarios, así como de los péptidos tóxicos del gluten en muestras biológicas humanas, no ha dejado de realizarse como indicación de estar vigente su alta relevancia sanitaria y socioeconómica.

#### *Contratos de licencia de material biológico*

- Biological Material License Agreement by the Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPBLN) and Hygiena Diagnostica España, S.L of H1A1C1 and H5G12A4 hybridomas and G12 and A1 monoclonal antibodies. Madrid, 1/VII/2019 (10 years).
- Contrato de Licencia de Material Biológico (adenda 1) del CSIC-IPBLN con la Empresa Biomedal SL (España) de los hibridomas H5G12A4 y H1A1C1 y de los anticuerpos monoclonales G12 y A1, por el que Biomedal declara subrogar parte de los derechos adquiridos a la empresa Hygiena. Madrid, 1/VII/2019 (duración 10 años).

#### *Manuscritos*

- Moron et al. 2008. *American Journal Clinical Nutrition*. 87:405-414. PMID: 18258632. DOI: 10.1093/ajcn/87.2.405.
- Moron et al. 2008. *PLoS ONE*. 3(5):e2294. PMID: 18509534. DOI: 10.1371/journal.pone.0002294.