



Revista Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular



CO037 - EVALUACIÓN DEL PAPEL DE LAS ANEXINAS EN LA TERAPIA CON CÉLULAS CAR-T DE TUMORES SÓLIDOS: RADIOMARCAJE CON TECNECIO-99M Y ESTUDIOS DE BIODISTRIBUCIÓN *IN VIVO* MEDIANTE MICROSPECT/CT

*Félix Pareja del Río*¹, Alicia Fernández-González¹, Juan José Lasarte Sagastibelza², Celia Martín Ota¹, Teresa Lozano Moreda², Rocío Ramos-Membrive³, María Collantes⁴, Gemma Quincoces¹ e Iván Peñuelas¹

¹Unidad de Radiofarmacia, Servicio de Medicina Nuclear, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, España.

²Programa de Inmunología e Inmunoterapia, CIMA Universidad de Navarra, Pamplona, España. ³Unidad de Radiofarmacia, Servicio de Medicina Nuclear, Clínica Universidad de Navarra, Madrid, España. ⁴Unidad de Imagen Molecular Traslacional (UNIMTRA), Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, España.

Resumen

Introducción: La expresión de fosfatidilserina (PS) en la membrana plasmática externa de las células tumorales puede constituir una diana para el desarrollo de terapias con células CAR-T. Basándonos en la capacidad de la proteína anexina-V para unirse a PS con alta afinidad, valoramos la posibilidad de generar una proteína adaptadora que contenga anexina para redirigir hacia PS la actividad de un CAR contra el dominio extra A de la fibronectina (EDA), que se expresa en la matriz extracelular de numerosos tumores. Así, hemos producido la proteína de fusión bifuncional EDA-Anexina-V y analizado su biodistribución en un modelo tumoral murino.

Objetivo: Radiomarcaje con tecnecio-99m de EDA-anexina y EDA-OVA (ovoalbúmina, proteína control con un peso molecular similar) para realizar estudios de biodistribución *in vivo* mediante micro-SPECT/CT en un modelo murino de teratocarcinoma (F9).

Material y métodos: Se marcaron 140 µg (200 µL) de EDA-anexina con 14 MBq de [99mTc]NaTcO₄, utilizando 40 µL de SnCl₂ (5 mg/mL) como agente reductor, y 70 µg (100 µL) de EDA-OVA con 17,4 MBq de [99mTc (CO)₃(H₂O)₃]⁺, previamente preparados mediante la adición de 740MBq de [99mTc]NaTcO₄ sobre un kit de tricarbonilos y posterior incubación a 100 °C (30') y 25 °C (15'). Para los estudios de biodistribución, se administraron por vía intravenosa 12,4 MBq de [99mTc]Tc-EDA-OVA y 4,1 MBq de [99mTc]Tc-EDA-anexina a ratones sv119 con tumores F9 en el flanco, y se adquirieron imágenes micro-SPECT/CT a 1, 3, 6 y 22 h.

Resultados: La pureza radioquímica fue en ambos casos superior al 96% (ITLC-SG y citrato de sodio 0,1 M para [99mTc]Tc-EDA-OVA; ITLC-SG y NaCl 0,9% para [99mTc]Tc-EDA-anexina). Se detectó captación de [99mTc]Tc-EDA-OVA y [99mTc]Tc-EDA-anexina en el tumor a partir de 6h, mientras que, a t = 22h, [99mTc]Tc-EDA-OVA solo se detectó en riñones y vejiga y [99mTc]Tc-EDA-Anexina permanecía en el tumor, observándose además en hígado y médula ósea.

Conclusiones: Se ha realizado el radiomarcaje con tecnecio-99m de ambas proteínas de fusión y llevado a cabo estudios de biodistribución *in vivo* mediante microSPECT/CT, observándose una

importante captación de $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-EDA-Anexina}$ en la diana vs. $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-EDA-OVA}$, demostrando así la especificidad de la unión de la proteína EDA-anexina a los tumores como primer paso para el desarrollo de terapias CAR-T.