



Revista Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular



CO019 - NANOBODIES RADIOMARCADOS CON TECNECIO-99M COMO HERRAMIENTA PARA ESTUDIOS DE ESPECIFICIDAD Y BIODISTRIBUCIÓN *IN VIVO*

María Collantes Martínez¹, Noelia Mendoza², Jon Ander Simón³, Félix Pareja³, Margarita Ecay¹, Gemma Quincoces³, Marc García-Moure⁴, Alberto J. Schuhmacher² e Iván Peñuelas^{1,3}

¹Unidad de Imagen Molecular Traslacional (UNIMTRA), Servicio Medicina Nuclear, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, España. ²Instituto de Investigación Sanitaria Aragón, Zaragoza, España. ³Unidad de Radiofarmacia, Servicio Medicina Nuclear, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, España. ⁴Programa de tumores sólidos, Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Pamplona, España.

Resumen

El objetivo del trabajo fue radiomarcarse un *nanobody* diseñado para el tratamiento mediante inmunoterapia de tumores cerebrales B4GALNT1+ y el estudio *in vitro* e *in vivo* de su especificidad y biodistribución. El *nanobody* (14 KDa, 80 μ g) se marcó utilizando 700 MBq de $[^{99m}\text{Tc}][\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ mediante kits Isolink™. El mantenimiento de la especificidad de unión del ^{99m}Tc -*nanobody* se estudió *in vitro* incubándolo 30' a 37 °C utilizando líneas celulares B4GALNT1+ y B4GALNT1-, midiendo la radiactividad incorporada en contador gamma y validando los resultados mediante citometría de flujo. Los estudios de biodistribución *in vivo* se realizaron en un modelo murino de tumores xenoinjertados (n = 6) implantando tumores B4GALNT1+ y B4GALNT1- en ambos flancos. Tras la inyección intravenosa de $10,9 \pm 0,7$ MBq del ^{99m}Tc -*nanobody*, se realizaron imágenes microSPECT/CT a los 30m, 2h y 4h, cuantificando el porcentaje de dosis en los tumores (%ID). La actividad en tumores y otros tejidos se midió *ex vivo* en contador gamma (4h p.i.), calculando el porcentaje de dosis por gramo (%ID/g). Se logró el radiomarcaje del *nanobody* con rendimiento 80%/pureza radioquímica 95%. Los estudios *in vitro* demostraron una mayor incorporación del ^{99m}Tc -*nanobody* en las células B4GALNT1+ confirmadas por citometría ($p < 0,005$, ANOVA). Las imágenes *in vivo* mostraron una rápida y mayor incorporación en tumores+ respecto a tumores- desde 30m posadministración ($1,7 \pm 0,34\%$ ID vs. $0,20 \pm 0,07$; ANOVA 2 vías, $p < 0,0001$) que permaneció invariable a lo largo del tiempo (ANOVA 2 vías, $p = 0,208$). El estudio de biodistribución demostró una excreción del *nanobody* vía renal desde 30m posadministración y mínima incorporación en otros órganos, confirmándose *ex vivo* a 4h (riñón: $78,8 \pm 12,5\%$ ID/g, cerebro: $0,07 \pm 0,01\%$ ID/g; músculo: $0,26 \pm 0,03\%$ ID/g). El radiomarcaje con $[^{99m}\text{Tc}][\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ de *nanobodies* resulta una técnica eficaz para el estudio cuantitativo de su especificidad y cinética de biodistribución. Estas técnicas pueden utilizarse como herramienta para la selección de *nanobodies* optimizados frente a dianas específicas.