



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 Otal², 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 μ g (200 μ L) de EDA-anexina con 14 MBq de $[^{99m}\text{Tc}]\text{NaTcO}_4$, utilizando 40 μ L de SnCl_2 (5 mg/mL) como agente reductor, y 70 μ g (100 μ L) de EDA-OVA con 17,4 MBq de $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$, previamente preparados mediante la adición de 740MBq de $[^{99m}\text{Tc}]\text{NaTcO}_4$ 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 $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-EDA-OVA}$ y 4,1 MBq de $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-EDA-anexina}$ 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 $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-EDA-OVA}$; ITLC-SG y NaCl 0,9% para $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-EDA-anexina}$). Se detectó captación de $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-EDA-OVA}$ y $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-EDA-anexina}$ en el tumor a partir de 6h, mientras que, a t = 22h, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-EDA-OVA}$ solo se detectó en riñones y vejiga y $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-EDA-Anexina}$ 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.