



# 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 MICRO-SPECT/CT

*Félix Pareja del Río*<sup>1</sup>, Alicia Fernández-González<sup>1</sup>, Juan José Lasarte Sagastibelza<sup>2</sup>, Celia Martín Ota<sup>2</sup>, Teresa Lozano Moreda<sup>2</sup>, Rocío Ramos-Membrive<sup>3</sup>, María Collantes<sup>4</sup>, Gemma Quincoces<sup>1</sup> e Iván Peñuelas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Radiofarmacia, Servicio de Medicina Nuclear, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, España. <sup>2</sup>Programa de Inmunología e Inmunoterapia, CIMA Universidad de Navarra, Pamplona, España. <sup>3</sup>Unidad de Radiofarmacia, Servicio de Medicina Nuclear, Clínica Universidad de Navarra, Madrid, España. <sup>4</sup>Unidad 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  $\mu$ g (200  $\mu$ L) de EDA-anexina con 14 MBq de  $[^{99m}\text{Tc}]\text{NaTcO}_4$ , utilizando 40  $\mu$ L de  $\text{SnCl}_2$  (5 mg/mL) como agente reductor, y 70  $\mu$ g (100  $\mu$ 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 740 MBq 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.