

Marcin Rylski^{1,2}, Jerzy Walecki³⁻⁴

¹Wojskowy Instytut Medycyny Lotniczej w Warszawie

²Laboratorium Neurobiologii Molekularnej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie

³Zakład Diagnostyki Radiologicznej i Obrazowej Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

⁴Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie

Bezpośrednie obrazowanie wyników leczenia ukierunkowanego na zahamowanie funkcji receptora czynnika wzrostu naskórka (EGFR) w chorobach nowotworowych

Direct EGFR inhibition imaging in targeted treatment in neoplastic diseases

Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. med. Jerzy Walecki
Zakład Diagnostyki Radiologicznej
i Obrazowej Centrum Medycznego
Kształcenia Podyplomowego
ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa
e-mail: jerzywalecki@o2.pl
Tel.: +48 (22) 508 15 60

STRESZCZENIE

Leczenie ukierunkowane na zahamowanie funkcji receptora czynnika wzrostu naskórka (EGFR) jest nowym podejściem farmakologicznym do terapii chorób nowotworowych u ludzi. Obecnie w praktyce klinicznej monitorowanie obrazowe wyników tego leczenia *in vivo* odbywa się w sposób pośredni (nieuwiadczeniawczo obecności EGFR), za pomocą takich metod, jak tomografia komputerowa, ultrasonografia czy klasyczne obrazowanie rezonansu magnetycznego. Na etapie badań przedklinicznych znajdują się metody bezpośredniego obrazowania skuteczności tej terapii za pomocą pozytonowej tomografii emisyjnej. W tej publikacji uwzględniono najważniejsze dane dotyczące bezpośredniego obrazowania ekspresji EGFR w nowotworach.

Słowa kluczowe: EGFR, EGF, obrazowanie, PET, leczenie celowane, choroba nowotworowa

ABSTRACT

Epidermal growth factor receptor (EGFR) targeted therapy is a novel pharmacological approach to a treatment of neoplastic diseases in humans. In a clinical practice treatment results are currently monitored *in vivo* using indirect (not targeted to EGFR) imaging strategies, like computed tomography, ultrasound or classical magnetic resonance imaging. However, methods dedicated for direct EGFR imaging and based on positron emission tomography are already at the preclinical stage of development. In the paper, most important data related to direct EGFR expression imaging in neoplasms was reviewed.

Key words: EGFR, EGF, imaging, PET, targeted therapy, cancer disease

Onkol. Prak. Klin. 2010; 6, 5: 278–282

Onkologia w Praktyce Klinicznej
2010, tom 6, nr 5, 278–282
Copyright © 2010 Via Medica
ISSN 1734–3542
www.opk.viamedica.pl

Wstęp

Obecnie coraz popularniejszym podejściem leczniczym w onkologii staje się leczenie celowane, czyli stosowanie leków posiadających ściśle zdefiniowane molekularne punkty uchwytu. Leki te hamują aktywność cząsteczek mających istotne znaczenie dla biologii nowotworu. Jedną z najczęściej wykorzystywanych w praktyce klinicznej form terapii celowanej jest hamowanie funkcji należącego do rodziny *c-erb* receptora czynnika wzrostu naskórka (EGFR, *epidermal growth factor receptor*) o aktywności kinazy tyrozynowej. Receptor ten jest zlokalizowany w błonie komórkowej i przekazuje sygnały ze środowiska zewnątrzkomórkowego do wnętrza komórki. Do jego ligandów należą czynnik wzrostu naskórka (EGF), transformujący czynnik wzrostu alfa (*TGF- α* , *transforming growth factor alpha*) i neureguliny [1]. Wiązanie się liganda do EGFR powoduje jego dimeryzację i następczą, zależną od ATP, fosforylację jego wewnątrzkomórkowych reszt tyrozynowych. Prowadzi to do aktywacji receptora odzwierciedlonej w pobudzeniu różnorodnych wewnątrzkomórkowych kaskad sygnalizacyjnych [2]. W wielu różnych typach nowotworów złośliwych przekaźnictwo sygnałów wewnątrzkomórkowych wywołane aktywnością EGFR jest jednym z najczęściej nieprawidłowo funkcjonujących szlaków. Zaburzenie funkcjonowania tego szlaku może być wywołane zmianami patologicznymi występującymi na każdym etapie jego aktywacji [3, 4]. Zaburzenie funkcji EGFR jest silnym sygnałem proonkogenym, ponieważ EGFR uczestniczy zarówno w procesach komunikacji dokomórkowej, jak i międzykomórkowej oraz reguluje liczne procesy, które wpływają na rozwój nowotworu, takie jak proliferacja komórkowa, angiogeneza, migracja komórek, tworzenie przerzutów odległych czy hamowanie apoptozy. Obecnie do leczenia ukierunkowanego na zahamowanie aktywności EGFR używa się leków należących do dwóch grup. Pierwsza z nich to drobnocząsteczkowe inhibitory związanej z EGFR aktywności kinazy tyrozynowej, takie jak gefitynib i erlotynib. Druga to przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko EGFR, do których zalicza się cetuksymab i panitumumab [5]. Obie grupy leków po wyznakowaniu odpowiednimi znacznikami w warunkach *in vivo* mogą służyć do obrazowego monitorowania efektywności terapii interferującej z funkcją EGFR.

Obrazowanie skuteczności leczenia ukierunkowanego na zahamowanie funkcji EGFR nie jest łatwe. Jednym z głównych powodów jest niewielki efekt terapeutyczny, jaki występuje po zastosowaniu tej grupy leków. Ponadto wydaje się, że właściwym podejściem jest ocena obrazowa efektywności terapii interferującej z funkcją EGFR za pomocą obrazowania molekularnego (najlepiej nakierowanego na obrazowanie lokalizacji i aktywności EGFR). Nie jest to łatwe, ponieważ techniki obrazowa-

nia molekularnego, mimo intensywnego rozwoju w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat, wciąż są ograniczone głównie do zastosowań u zwierząt. Obrazowanie molekularne EGFR, zwłaszcza ilościowe, wydaje się jednym z punktów krytycznych na drodze opracowywania metod weryfikujących efektywność terapii ukierunkowanych na zahamowanie funkcji EGFR. Umożliwia ono dokonanie nieinwazyjnego obrazowego oznaczenia nasilenia ekspresji EGFR w organizmie (czyli jego dystrybucji czasowo-przestrzennej *in vivo*), a zwłaszcza w tkance nowotworu. Pozwala ocenić wpływ nasilenia ekspresji EGFR na odpowiedź terapeutyczną uzyskiwaną wskutek zastosowania inhibitorów aktywności EGFR. Jest to też jedyna możliwość bezpośredniej oceny *in vivo* efektu leczenia interferującego z funkcją EGFR. Ściśle zdefiniowane molekularnie obrazowanie efektywności leczenia jest niezbędne zwłaszcza na etapach badań przedklinicznych i wczesnych klinicznych nad skutecznością leku i najlepiej, gdy umożliwia obrazowanie efektywności i stabilności wiązania się leku do EGFR oraz do jego zmutowanych form *in vivo*. Ujawnienie charakteru interakcji pomiędzy lekiem a jego punktem uchwytu (w tym przypadku EGFR) oraz określenie poziomu wysycenia receptora może zoptymalizować schematy czasowe i dawkowanie leków interferujących z aktywnością EGFR. Niewystarczające dopracowanie schematów dawkowania tych leków uważa się za jedną z przyczyn ich małej efektywności [6]. Dodatkowo, obrazowanie molekularne może umożliwić wykrycie w cząsteczce EGFR obecności pierwszorzędowych lub drugorzędowych mutacji powodujących pojawienie się oporności na leczenie interferujące z funkcją EGFR lub zwiększających odpowiedź na tę terapię. Obecnie u ludzi wyniki tego rodzaju leczenia ocenia się przede wszystkim pośrednio, poprzez morfologiczną analizę zmiany objętości czy struktury guza (np. wzoru jego unaczynienia czy charakterystyki zmian inwolucyjnych) z wykorzystaniem metod takich jak badanie rezonansu magnetycznego (MRI, *magnetic resonance imaging*), tomografia komputerowa (CT, *computed tomography*) czy badanie ultrasonograficzne (USG, *ultrasonography*). Niestety, nawet zaawansowane techniki MRI, takie jak dyfuzja rezonansu magnetycznego (DWI, *diffusion-weighted imaging*) czy perfuzja rezonansu magnetycznego (PWI, *perfusion-weighted imaging*), nie są tu wystarczająco satysfakcjonującymi metodami obrazowymi.

Konieczność monitorowania skuteczności leczenia ukierunkowanego na zahamowanie aktywności EGFR u ludzi wynika między innymi z faktu opisywania wytwarzającej się podczas tego leczenia oporności, na przykład na gefitynib czy erlotynib [7, 8]. Istotny jest tu także brak korelacji pomiędzy stopniem nasilenia ekspresji EGFR w komórkach nowotworowych a efektem klinicznym leczenia ukierunkowanego na zahamowanie aktywności EGFR, na przykład w przypadku

terapii cetuksymabem [9–11], oraz łatwość EGFR do podlegania mutacjom w trakcie kancerogenezy [12]. Bezpośrednie zobrazowanie obecności EGFR *in vivo* umożliwia nie tylko ocenę efektów leczenia interferującego z funkcją EGFR, ale również pozwala na ocenę nasilenia ekspresji EGFR *in vivo* w różnych guzach oraz zmian nasilenia tej ekspresji w czasie. Dostępność obrazowania ekspresji EGFR umożliwi właściwą selekcję chorych do leczenia tego typu i jednocześnie pozwoli na bezpośrednie obrazowanie efektów tej terapii.

Obrazowanie ekspresji EGFR przeprowadza się obecnie głównie za pomocą pozytonowej tomografii emisyjnej (PET, *positron emission tomography*). Najlepsze do tego celu wydaje się znakowanie sond wykrywających EGFR z zastosowaniem izotopów o długim okresie półtrwania. Sondy te można bowiem wykrywać po dłuższym czasie od podania ich choremu, co umożliwi wymycie sond niespecyficznie związanych z tkankami. Sondy związane specyficznie dostarczają obraz sygnału stabilny w czasie. Zatem obrazowanie po pewnym czasie od zastosowania sond znakowanych izotopami o długich okresach połowicznego rozpadu prowadzi do otrzymania bardziej specyficznych obrazów, o wysokich wartościach współczynnika sygnału do szumu. W niniejszej pracy przyjęto, że w budowie EGFR można wyróżnić domenę zewnątrzkomórkową wiążącą ligand, hydrofobową domenę przezłonową oraz wewnątrzkomórkową domenę wykazującą aktywność kinazy tyrozynowej. Sondy wykrywające EGFR wiążą się zwykle za pomocą przeciwciała do domeny zewnątrzkomórkowej EGFR lub za pomocą drobnocząsteczkowych, odwracalnych lub nieodwracalnych, organicznych inhibitorów EGFR zawierających w swej cząsteczce anilinokwinazolinę do domeny wewnątrzkomórkowej EGFR [1, 13–16]. Opisano również sondy o strukturze ^{68}Ga -DOTA-hEGF, które są wyznakowanym radioaktywnie naturalnym ligandem EGFR, w tym przypadku ludzkiego czynnika wzrostu naskóra (hEGF, *human epidermal growth factor*) [17], jednak dotychczas nie sprawdzano efektywności działania tego typu sond w obrazowaniu *in vivo*.

Do obrazowania molekularnego EGFR wykorzystywano już wiele odwracalnych drobnocząsteczkowych inhibitorów EGFR, znakując je poprzez anilinokwinazolinę za pomocą podstawników chemicznych zawierających w swym składzie ^{11}C , ^{123}I , ^{125}I i ^{18}F oraz $^{99\text{m}}\text{Tc}$ [13–16, 18, 19]. Z tych związków jedynie inhibitor PD153035, znakowany z zastosowaniem ^{11}C , wykazał korzystny profil radiacyjny w badaniach przeprowadzonych u zdrowych ochotników [19]. W przypadku większości sond molekularnych z tej grupy zaobserwowano bardzo obiecujące wyniki w badaniach *in vitro* przeprowadzonych na liniach komórkowych, jednak rezultaty badań przedklinicznych nie przedstawiały się wystarczająco interesująco, by można było wykorzystać w praktyce klinicznej powyższe sondy do obrazowania *in vivo*. Pa-

radoksalnie, omawiane sondy charakteryzowała niska akumulacja w guzach nowotworowych charakteryzujących się ekspresją EGFR i wysoka w pozostałych tkankach. Przyczyn, z powodu których sondy z grupy odwracalnych inhibitorów EGFR nie były w stanie wystarczająco dobrze znakować receptora EGF *in vivo*, upatruje się w ich nadmiernej lipofilności, szybkim spadku ich stężenia we krwi, ich żywym metabolizmie w organizmach ssaków, kompetycyjnym wiązaniu się do EGFR cząsteczek ATP (występującym przecież wewnątrzkomórkowo w stężeniach wielokrotnie większych niż stężenia sond) oraz przyłączaniu się tych sond jedynie do aktywowanych (ufosforylowanych) EGFR. Warto podkreślić, że komórki charakteryzujące się obecnością zmutowanych form EGFR, nieposiadających zdolności do fosforylacji, nie mogą być uwidocznione w badaniach wykorzystujących odwracalne, drobnocząsteczkowe, organiczne inhibitory EGFR. Jest to istotny problem, ponieważ taka sytuacja biologiczna występuje często.

W celu zwiększenia efektywności wiązania się sond do EGFR skoncentrowano się następnie na grupie znakowanych radioaktywnie związków będących nieodwracalnymi inhibitorami EGFR. Teoretycznie ze względu na stabilne i trwałe wiązanie się tych związków z EGFR takie sondy mają większe szanse, by być użyteczne i powinny pozwalać na efektywne obrazowanie EGFR *in vivo* [13, 16, 20]. Sondy te w odróżnieniu od przedstawicieli poprzednio omawianej grupy mogą znakować zarówno komórki posiadające wyłącznie zmutowane, aktywne (ufosforylowane) formy receptora EGFR, jak i komórki charakteryzujące się obecnością wariantów nieaktywnych EGFR lub posiadające oba funkcjonalne warianty białkowe EGFR [16, 20]. Ta grupa związków posiada grupę funkcyjną w pozycji 6. cząsteczki anilinokwinazoliny, która łączy się kowalencyjnie z cysteiną 733 receptora EGF leżącą w kieszeni wiążącej ATP. W celu dodatkowego zwiększenia atrakcyjności diagnostycznej nieodwracalnych inhibitorów EGFR w pozycji 7. cząsteczki anilinokwinazoliny wstawia się podstawniki, na przykład glikol polietylenowy, zmniejszające lipofilność tych związków, co w konsekwencji zmniejsza ich klirens z krwi i ich niespecyficzne wiązania tkankowe [16]. Z badań *in vitro* i *in vivo* tej grupy związków wynika, że nieodwracalne inhibitory EGFR charakteryzują się zwiększoną akumulacją w tkance guzów, w których stwierdza się nadmierną ekspresję EGFR, i zmutowanych, stale ufosforylowanych form EGFR w stosunku do inhibitorów odwracalnych. Podobnie na podstawie licznych badań wykazano, że sondy na bazie nieodwracalnych inhibitorów EGFR zawierające izotopy o dłuższych okresach połowicznego rozpadu pozwalają uzyskać bardziej specyficzny i silniejszy sygnał *in vivo* w tkankach guza niż związki zawierające radioizotopy o krótkich czasach półtrwania. W badaniach PET przeprowadzonych u małych zwierząt

dwa z tych związków: ^{18}F -ML04 i morfolino- ^{124}I -IPQA, mogą umożliwić właściwe zobrazowanie guzów charakteryzujących się nadmierną ekspresją EGFR [13, 14, 16]. Dodatkowo, morfolino- ^{124}I -IPQA może odróżnić zaktywowaną formę EGFR od formy nieaktywnej [14]. Jest to o tyle ważne, że nasilenie aktywności EGFR wpływa na potencjał nowotworowy komórek. Niemniej jednak należy wyraźnie podkreślić, że obecnie za pomocą znakowanych radioaktywnie nieodwracalnych inhibitorów EGFR wciąż nie można uzyskać wystarczająco satysfakcjonujących danych obrazowych *in vivo*. Są one ciągle obciążone małymi wartościami wskaźnika sygnału do szumu, co wynika z niewystarczającego poziomu specyficzności wiązania się sond obrazowych z EGFR i znacznego stopnia akumulacji znacznika w tkankach innych niż docelowe.

Znakowane przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko EGFR wykorzystuje się do obrazowania zewnątrzkomórkowej części tego receptora. Większość tych sond to koniugaty cetuksymabu, takie jak DTPA-cetuksymab, DTPA-PEG-cetuksymab, cetuksymab-p-SCN-benzylo-DTPA, znakowane wykrywanymi w PET radionuklidami, takimi jak ^{64}Cu , ^{88}Y , ^{111}In i ^{125}I [16]. Lokalizują się one nie tylko specyficznie w guzach nowotworowych charakteryzujących się nadmierną ekspresją EGFR, ale również często mają tendencję do kumulacji w wątrobie. Gromadzenie w wątrobie można zmniejszyć, przeprowadzając u zwierząt obrazowanie w późnej fazie po podaniu kontrastu lub dodając wolny znacznik PET do składu sondy molekularnej. Oprócz klasycznych przeciwciał służących do wykrywania EGFR używa się ich niskocząsteczkowych analogów typu *affibodies*, zapewniających lepszy kontrast [16, 21] czy cząsteczek typu „*minibody*” [22, 23]. W przypadku niektórych z omawianych sond należących do tej grupy stwierdza się obiecująco wysokie wartości współczynnika wychwytu guz/krew.

Metody monitorowania skuteczności terapii ukierunkowanej na zahamowanie aktywności EGFR *in vivo* zaczęto stosować pod koniec lat 90. ubiegłego stulecia, jednak już obecnie próba wdrożenia ich do diagnostyki klinicznej zaowocowała wymiernymi korzyściami. Doprowadziła na przykład do odkrycia dużej niespecyficznej dystrybucji znakowanych inhibitorów EGFR w organizmie, co było odkryciem nieoczekiwanym, ponieważ badania *in vitro* potwierdzały bardzo dużą specyficzność i użyteczność terapeutyczną tej grupy farmaceutyków. Dzięki temu uzmysłowiono sobie potrzebę poszukiwania doskonalszych analogów inhibitorów EGFR, co w rezultacie doprowadziło do identyfikacji kilku nieodwracalnych inhibitorów tego receptora. Należy zatem oczekiwać, że gwałtowny rozwój technik obrazowania EGFR *in vivo* będzie przynosił coraz liczniejsze korzyści.

Próby wykorzystania metod obrazowania do monitorowania skuteczności leczenia ukierunkowanego na

zahamowanie funkcji EGFR u ludzi aktualnie pozostają jeszcze na etapie badań przedklinicznych. Wyniki uzyskane *in vivo* różnią się znacznie od siebie w zależności od własności chemicznych sondy molekularnej, użytego znacznika PET czy zastosowanego układu doświadczalnego. Dodatkowo, pomimo intensywnego rozwoju technik znakowania EGFR w warunkach *in vivo* i obiecujących wyników wstępnych w obrazowaniu rozmieszczenia EGFR u ludzi wciąż nie do końca poznano specyficzność kontrastów znakujących EGFR *in vivo*. Metody obrazowania EGFR z zastosowaniem PET są dalej obciążone znaczną akumulacją stosowanych sond molekularnych w wątrobie, jelicie czy nerkach [24–27]. Ponadto struktura guza, a zwłaszcza stan jego łożyska naczyniowego oraz występujące w nim ogniska martwicy, mogą znacznie wpływać na niezależną od ekspresji EGFR dystrybucję kontrastu wewnątrz guza. Problem ten na pewno będzie można, przynajmniej częściowo, rozwiązać w przyszłości, nakładając obraz PET na zbierane równocześnie dane anatomiczne podczas obrazowania dualnego PET/CT czy obecnie zaczynającego się rozwijać obrazowania PET/MRI, bądź też stymulując rozwój ukierunkowanych na zahamowanie funkcji EGFR technik molekularnego obrazowania rezonansu magnetycznego [28].

Piśmiennictwo

1. Pantaleo M.A., Nannini M., Maleddu A. i wsp. Experimental results and related clinical implications of PET detection of epidermal growth factor receptor (EGFR) in cancer. *Ann. Oncol.* 2009; 20: 213–226.
2. Schlessinger J. Ligand-induced, receptor-mediated dimerization and activation of EGF receptor. *Cell* 2002; 110: 669–672.
3. Salomon D.S., Brandt R., Ciardiello F., Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptor in human malignancies. *Critical Rev. Oncol. Hematol.* 1995; 19: 183–232.
4. Sharma S.V., Bell D.W., Settleman J., Haber D.A. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2007; 7: 169–181.
5. Ciardiello F., Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358: 1160–1174.
6. Mishani E., Hagooley A. Strategies for molecular imaging of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase in cancer. *J. Nucl. Med.* 2009; 50: 1199–1202.
7. Kobayashi S., Boggon T.J., Dayaram T. i wsp. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 786–792.
8. Pao W., Miller V.A., Politi K.A. i wsp. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS. Med.* 2005; 2: e73.
9. Cunningham D., Humblet Y., Siena S. i wsp. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 337–345.
10. Chung K.Y., Shia J., Kemeny N.E. i wsp. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 1803–1810.
11. Bernier J. Cetuximab in the treatment of head and neck cancer. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2006; 6: 1539–1552.
12. Mitsudomi T., Yatabe Y. Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR gene and cancer. *FEBS J* 2010; 277: 301–308.
13. Mishani E., Abourbeh G. Cancer molecular imaging: radionuclide-based biomarkers of the epidermal growth factor receptor (EGFR). *Curr. TopMed. Chem.* 2007; 7: 1755–1772.

14. Gelovani J.G. Molecular imaging of epidermal growth factor receptor expression activity at the kinase level in tumors with positron emission tomography. *Cancer Metastasis Rev.* 2008; 27: 645–653.
15. Cai W., Niu G., Chen X. Multimodality imaging of the HER-kinase axis in cancer. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2008; 35: 186–208.
16. Mishani E., Abourbeh G., Eiblmaier M., Anderson C.J. Imaging of EGFR and EGFR tyrosine kinase overexpression in tumors by nuclear medicine modalities. *Curr. Pharm. Des.* 2008; 14: 2983–2998.
17. Velikyan I., Sundberg A.L., Lindhe O. i wsp. Preparation and evaluation of (68)Ga-DOTA-hEGF for visualization of EGFR expression in malignant tumors. *J. Nucl. Med.* 2005; 46: 1881–1888.
18. Memon A.A., Jakobsen S., Dagnaes-Hansen F., Sorensen B.S., Keiding S., Nexø E. Positron emission tomography (PET) imaging with [¹¹C]-labeled erlotinib: a micro-PET study on mice with lung tumor xenografts. *Cancer Res.* 2009; 69: 873–878.
19. Liu N., Li M., Li X. i wsp. PET-based biodistribution and radiation dosimetry of epidermal growth factor receptor-selective tracer ¹¹C-PD153035 in humans. *J. Nucl. Med.* 2009; 50: 303–308.
20. Levitzki A., Mishani E. Tyrosine kinase inhibitors. *Ann. Rev. Biochem.* 2006; 75: 93–109.
21. Tolmachev V., Friedman M., Sandström M. i wsp. Affibody molecules for epidermal growth factor receptor targeting in vivo: aspects of dimerization and labeling chemistry. *J. Nucl. Med.* 2009; 50: 274–283.
22. Smith-Jones P.M., Solit D.B., Akhurst T., Afroze F., Rosen N., Larson S.M. Imaging the pharmacodynamics of HER2 degradation in response to Hsp90 inhibitors. *Nat. Biotechnol.* 2004; 22: 701–706.
23. Smith-Jones P.M., Solit D., Afroze F., Rosen N., Larson S.M. Early tumor response to Hsp90 therapy using HER2 PET: comparison with ¹⁸F-FDG PET. *J. Nucl. Med.* 2006; 47: 793–796.
24. Ortu G., Ben-David I., Rozen Y. i wsp. Labeled EGFR-TK irreversible inhibitor (ML03): in vitro and in vivo properties, potential as PET biomarker for cancer and feasibility as anticancer drug. *Int. J. Cancer* 2002; 101: 360–370.
25. Pal A., Glekas A., Doubrovin M. i wsp. Molecular imaging of EGFR kinase activity in tumors with ¹²⁴I-labeled small molecular tracer and positron emission tomography. *Mol. Imaging Biol.* 2006; 8: 262–277.
26. Abourbeh G., Dissoki S., Jacobson O. i wsp. Evaluation of radiolabeled ML04, a putative irreversible inhibitor of epidermal growth factor receptor, as a bioprobe for PET imaging of EGFR-overexpressing tumors. *Nucl. Med. Biol.* 2007; 34: 55–70.
27. Su H., Seimbille Y., Ferl G.Z. i wsp. Evaluation of [(¹⁸F)]gefitinib as a molecular imaging probe for the assessment of the epidermal growth factor receptor status in malignant tumors. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2008; 35: 1089–1099.
28. Rylski M., Walecki J. Magnetic resonance imaging at the cellular and molecular levels. W: Walecki J. (red.). *Progress in Neuro-radiology 2009. International Scientific Literature, Inc. New York 2009.*