

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ВИЗУАЛИЗАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК *in vivo* (ОБЗОР)

УДК 591.089.84:612.7:531.1

Поступила 12.08.2015 г.



А.В. Мелешина, к.б.н., младший научный сотрудник НИИ биомедицинских технологий¹; научный сотрудник Института биологии и биомедицины²;

Е.И. Черкасова, к.б.н., научный сотрудник НИИ биомедицинских технологий¹; зав. лабораторией кафедры биофизики Института биологии и биомедицины²;

М.В. Ширманова, к.б.н., зав. лабораторией НИИ биомедицинских технологий¹; научный сотрудник Института биологии и биомедицины²;

А.А. Храпичев, к.ф.-м.н., старший научный сотрудник факультета онкологии³; научный сотрудник Института биологии и биомедицины²;

В.В. Дуденкова, аспирант радиофизического факультета²; научный сотрудник НИИ биомедицинских технологий¹;

Е.В. Загайнова, д.м.н., директор НИИ биомедицинских технологий¹; ведущий научный сотрудник Института биологии и биомедицины²

¹Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Н. Новгород, 603950, проспект Гагарина, 23;

³University of Oxford, Old Road Campus Research Building, Roosevelt Drive Oxford, OX3 7DQ, Great Britain

Применение существующих и разработка новых методов визуализации *in vivo* определенных групп клеток для задач клеточной регенеративной медицины — перспективное направление современных биомедицинских исследований. Прижизненный биоимиджинг традиционно используется для изучения направления миграции, пролиферации и дифференцировки стволовых клеток в условиях эксперимента и клиники. В настоящее время разработаны методы для визуализации клеток и их структур *in vivo* с широким выбором показателей чувствительности, разрешения и специфичности, что позволяет подобрать оптимальные условия для проведения исследования. Разнообразие подходов дает возможность осуществлять анатомические, физиологические, фармакологические и молекулярные исследования, причем в некоторых случаях методы могут быть удачно скомбинированы. В настоящее время системы визуализации *in vivo* продолжают активно совершенствоваться: появляются еще более чувствительные приборы, создаются новые молекулярные метки и стратегии внедрения их в клетку.

В обзоре проведен сравнительный анализ основных существующих методов мониторинга и мечения стволовых клеток и их возможностей в решении экспериментальных и клинических задач, дана оценка их преимуществ и недостатков.

Рассмотрены основные группы методов визуализации, применяемые для прижизненного наблюдения за миграцией клеток: оптические (биолюминесцентные и флюоресцентные, оптическая когерентная томография), неоптические (магнитно-резонансные и радионуклидные), гибридные (фотоакустические) и методы мультимодального имиджинга.

Охарактеризованы особенности методов: чувствительность, разрешение, специфичность, глубина проникновения в ткани. Приведены примеры использования методов прижизненного имиджинга для изучения миграции стволовых клеток различного происхождения в разных моделях. Описаны основные группы контрастирующих агентов, применяемых для повышения контрастности, чувствительности и специфичности методов имиджинга.

Ключевые слова: стволовые клетки; флюоресцентный имиджинг; биолюминесцентный имиджинг; оптическая когерентная томография; магнитно-резонансная томография; однофотонная эмиссионная компьютерная томография; позитронно-эмиссионная томография; фотоакустический имиджинг.

English

Modern Techniques for Stem Cells *in vivo* Imaging (Review)

A.V. Meleshina, PhD, Junior Researcher, Institute of Biomedical Technologies¹; Researcher, Institute of Biology and Medicine²;

E.I. Cherkasova, PhD, Researcher, Institute of Biomedical Technologies¹; Head of Laboratory, Department of Biophysics, Institute of Biology and Medicine²;

Для контактов: Мелешина Александра Викторовна, e-mail: almele@ya.ru

M.V. Shirmanova, PhD, Head of the Laboratory, Institute of Biomedical Technologies¹; Researcher, Institute of Biology and Medicine²;

A.A. Khrapichev, PhD, Senior Researcher, Faculty of Oncology³; Researcher, Institute of Biology and Medicine²;

V.V. Dudenkova, PhD Student, Department of Radiophysics²; Researcher, Institute of Biomedical Technologies¹;

E.V. Zagaynova, DSc, MD, Director, Institute of Biomedical Technologies¹; Leading Researcher, Institute of Biology and Medicine²

¹Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation;

²Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation;

³University of Oxford, Old Road Campus Research Building, Roosevelt Drive Oxford, OX3 7DQ, Great Britain

Application of existing techniques and development of novel approaches to *in vivo* imaging of particular cell groups for the tasks of cell regenerative medicine is one of the perspective directions in modern biomedical studies. *In vivo* bioimaging is traditionally employed to study migration direction, proliferation and differentiation of stem cells in experiment and in clinical environment. Currently, numerous techniques for *in vivo* imaging of cells and cell structures with wide choice of sensitivity, specificity, and resolution characteristics are developed allowing to select an optimal tool for the particular problem. The variety of the modalities provides the opportunity to perform anatomical, physiological pharmaceutical and molecular studies as well as their combinations. Recently the *in vivo* imaging systems are being continuously updated, the sensitivity of setups increases, and new molecular labels as well as labeling technologies are being developed.

The present review gives an overview of the basic methods for stem cells monitoring and labeling with the discussion of their possibilities, advantages and disadvantages in experimental and clinical studies.

The following classes of techniques for *in vivo* imaging of cell migration are considered: optical methods (including bioluminescence, fluorescence and optical coherence tomography), non-optical methods (including magnetic resonance imaging and radionuclide imaging), hybrid methods (including optoacoustic tomography) and techniques of multimodal imaging.

Physical characteristics of the outlined methods are analyzed, such as sensitivity, spatial resolution, specificity, maximum imaging depth. Examples of implementation of different techniques for *in vivo* imaging of migration of stem cells of various origin are given. Basic types of contrasting agents used to enhance contrast, sensitivity and specificity of the discussed imaging modalities are described.

Key words: stem cells; fluorescence imaging; bioluminescence imaging; optical coherence tomography; magnetic resonance imaging; single photon emission computed tomography; positron emission tomography; optoacoustic imaging.

Область применения клеточных технологий при лечении многих заболеваний неуклонно расширяется: стволовые клетки (СК) используются в различных направлениях регенеративной медицины (лечении болезни Паркинсона, Альцгеймера, инфаркта миокарда, лейкемии, диабета и других заболеваний) [1, 2]. Повышенное внимание к этой группе клеток обусловлено их уникальными свойствами: высокой пролиферативной активностью, способностью к самообновлению, высоким дифференцировочным потенциалом.

Клеточная терапия с участием СК проводится в двух основных направлениях: локальная трансплантация клеточного материала и системная трансплантация. В обоих случаях СК способны мигрировать, репопулировать и пролиферировать в патологических очагах, проявляя терапевтический эффект. При этом отмечается, что эффективность воздействия СК зависит не только от их способности восстанавливать поврежденные ткани, но главным образом — от способности мигрировать в ткани и органы. Поэтому актуальность исследования миграции трансплантируемых СК в первую очередь обусловлена тем, что эффективность регенерации тканей и органов во многом зависит от направления и интенсивности данного процесса. В связи с этим изучение миграции клеток имеет крайне важное фундаментальное и прикладное значение.

К фундаментальным можно отнести исследования, направленные на изучение существующего риска раз-

вития новообразований после трансплантации СК, механизмов влияния трансплантированных СК на развитие новообразований, эпигенетических механизмов дифференцировки СК [3–5]. К прикладным — исследование «мобильности» СК для определения жизнеспособности популяций трансплантированных клеток в течение длительного времени [6–8].

В настоящее время к методам исследования миграции СК предъявляются следующие требования: биосовместимость, биобезопасность, отсутствие токсичности; отсутствие генетической модификации СК; возможность определения единичной клетки в любой анатомической локализации; возможность количественной оценки миграции клеток; минимальное снижение визуализации при клеточном делении; присутствие контрастного вещества только в СК; неинвазивность метода (отсутствие повреждений клетки в течение длительного времени); отсутствие изменений контраста (метки) с течением времени (с изменением возраста клетки) [9].

Для визуализации СК *in vivo* используются технологии, основанные на различных физических принципах действия. Выделяют оптические и неоптические методы визуализации, гибридные технологии и методы мультимодальной имиджинга [10–13]. Основные группы вышеперечисленных методов представлены в таблице.

Большинство представленных технологий реализуются с использованием агентов как эндогенной, так и

Технологии визуализации миграции стволовых клеток

Вид имиджинга	Пространственное разрешение	Чувствительность	Глубина	Использование на животных в клинике	Уровни применения	Достоинства	Недостатки
Оптические методы визуализации							
Биоломинесцентный имиджинг — БИ	3–5 мм	10^{-15} – 10^{-17} М	см	Да/нет	Структурный (молекулярный, клеточный, органный)	Высокая чувствительность	Не может применяться в клинике
Флюоресцентный имиджинг — ФИ	2–3 мм	10^{-9} – 10^{-12} М	см	Да/нет	Структурный (молекулярный, клеточный, органный)	Высокая чувствительность	Не может применяться в клинике
Оптическая когерентная томография — ОКТ	0,5–20 мкм	—	2 мм	Да/да	Структурный (тканевый)	Высокая разрешающая способность Неинвазивность	Отсутствие клеточного разрешения
Неоптические методы визуализации							
Магнитная резонансная томография — МРТ	10–300 мкм	10^{-9} – 10^{-5} М	Не лимитирована	Да/да	Структурный (органный, клеточный, молекулярный) функциональный	Высокое пространственное разрешение, нет воздействия радиации	Низкая чувствительность, сигнал может не отражать жизнеспособные клетки
Однофотонная эмиссионная компьютерная томография — ОЭКТ	1–2 мм	10^{-10} – 10^{-12} М	Не лимитирована	Да/да	Структурный (молекулярный) функциональный	Высокая трансляционная способность Воздействие радиации	Чувствительность в 10–100 раз ниже, чем у ПЭТ
Позитронно-эмиссионная томография — ПЭТ	1–2 мм	10^{-11} – 10^{-12} М	Не лимитирована	Да/да	Структурный (молекулярный, органный) функциональный	Высокая чувствительность Высокая биологическая специфичность	Воздействие радиации
Гибридные методы визуализации							
Фотоакустический имиджинг — ФАИ	20–300 мкм	10^{-9} – 10^{-11} М	см	Да/да	Структурный (молекулярный, клеточный, органный)	Высокая разрешающая способность Неинвазивность	Контактный режим детектирования в фотоакустической томографии

экзогенной природы, повышающих контрастность, чувствительность и специфичность различных методов имиджинга.

Целью данного обзора послужило проведение сравнительного анализа основных методов мониторинга и меченая СК и их возможностей в решении экспериментальных и клинических задач, оценка их преимуществ и недостатков.

Оптические методы исследования

Методы оптического биоимиджинга (сбора информации об объекте путем наблюдения и регистрации оптических изображений) базируются на регистрации сигнала, возбуждаемого в объекте исследования для получения изображений различных слоев ткани с высокой селекцией по глубине и высоким пространственным разрешением.

К методам оптического имиджинга относятся флюоресцентный и биоломинесцентный, которые по разрешению делятся на методы с клеточным разрешением (микроскопические технологии), методы с разрешением на тканевом уровне и методы с разрешением на уровне целого организма.

Для улучшения видимости исследуемых структур в оптическом имиджинге применяются две большие группы контрастирующих агентов (маркеров): эндогенные, в норме присутствующие в клетках, и экзогенные, внесенные извне [14]. Последние подразделяются на прямые неспецифические (флюоресцентные красители, наночастицы) и непрямые специфические (репортерные гены).

При **флюоресцентной визуализации (флюоресцентном имиджинге — ФИ)** зондирующее излучение определенной длины волны возбуждает флюоресцентные молекулы-мишени (флюорофоры), способные в ответ испускать фотоны с большей длиной волны, которые регистрируются детектором.

Для ФИ используются обе груп-

пы контрастирующих агентов. К эндогенным маркерам относят группы биомолекул, способных к флуоресценции: аминокислоты (триптофан, тирозин, фенилаланин), структурные белки (коллаген, эластин), кофакторы в окисленной и восстановленной формах (НАД, НАДФ, ФАД), витамины групп А, D, К и их компоненты, некоторые липиды и липопротеины (фосфолипиды, липофусцин), различные группы порфиринов (копро-, уро-, прото-) [15]. Общим недостатком использования эндогенных маркеров является крайне ограниченное применение для визуализации СК *in vivo*.

С использованием экзогенных маркеров выполняется прямое неспецифическое мечение клеток. С определенными клеточными структурами взаимодействуют разные группы молекулярных флуоресцентных красителей: мембранные, цитоплазматические и ядерные [16].

Мембранные флуоресцентные красители представляют собой липофильные производные карбоцианинов. Для исследований миграции СК *in vivo* применяются в основном красители семейства РКН [17], что связано с длительным сохранением метки (до месяца). К цитоплазматическим красителям относятся кальцеин, 2',7'-бис-(2-карбокситил)-5(6)-карбоксифлуоресцеин (BCECF), диацетатфлуоресцеин (FDA), 5(6)-карбоксифлуоресцеиндиацетат (CFDA), эфир ацетоксиметила (CFDA-AM) и карбоксифлуоресцеина CFSE (carboxyfluorescein succinimidyl ester) [18]. Ядерные красители связываются с аденин-богатыми участками малой бороздки ДНК клеток, широко используются DAPI и Hoechst 33342 [19]. Достоинства этих групп красителей — доступность, простота исполнения, отсутствие генетической модификации клеток и возможность применения для исследования пролиферации. Недостатками считаются выведение красителя из клетки со временем и возможность переноса красителя в окружающие клетки.

К экзогенным маркерам относят также различные виды наночастиц. Среди достоинств наночастиц отмечают уникальные физические свойства, разумную стоимость, легкую доступность [20, 21]. В оптическом биоимиджинге применяются флуоресцентные полимерные наночастицы [22], флуоресцентные наночастицы диоксида кремния [23] и квантовые точки [24].

Непрямое специфическое мечение СК может осуществляться с использованием методов генетического маркирования. При этом выбранная группа клеток подвергается трансфекции или вирусной трансдукции репортерными конструкциями, кодирующими метку (белок) под контролем специфического промотора [25]. Семейство гомологичных флуоресцентных белков, полученных из кишечнорастворимых, представителем которых является зеленый флуоресцентный протеин (GFP) из медузы *Aequorea victoria*, активно применяется в качестве меток. Флуоресцентные белки, будучи экспрессированными под контролем регуляторных элементов белка-мишени в составе репортерной конструкции, делают возможным оптическое наблюдение за экспрессией белка-мишени *in vivo* и *in vitro* [26].

Наиболее простой реализацией прижизненного ФИ на уровне организма является поверхностный имиджинг, который дает возможность оперативно (1–2 с) оценить размеры флуоресцирующей области, находящейся вблизи поверхности исследуемого объекта. Использование высокочувствительных приемников позволяет обнаруживать также глубинную флуоресценцию, однако при этом изображение существенно размывается из-за сильного рассеяния света биотканями. В последние несколько лет появились коммерчески доступные установки для поверхностного флуоресцентного имиджинга (Ivis, Maestro, Kodak, США). Данные системы визуализации реализуют режимы эпифлуоресценции, транслюминесценции и 3D-флуоресцентной диффузионной томографии [27].

Методы ФИ широко используются для изучения роли СК в канцерогенезе при получении представлений о биораспределении, тропизме и взаимодействии СК с опухолями. Здесь и в дальнейшем мы будем в основном приводить примеры задач, посвященных изучению роли СК в канцерогенезе, поскольку данные примеры наглядно демонстрируют возможности методов прижизненного имиджинга и являются чрезвычайно актуальными для расширения сферы терапевтического применения СК.

В ходе ФИ *in vivo* исследовано распределение аллогенных СК, меченных GFP, в организме иммунодефицитных мышей [28]. D. Wolf с соавт. [29] наблюдали миграцию системно-введенных флуоресцентно-меченных СК человека к легочным метастазам, индуцированным инъекцией клеток почечной карциномы мышей.

Методы ФИ *in vivo* и лазерной сканирующей микроскопии были использованы для изучения взаимодействия опухоли и мезенхимных СК в модели рака шейки матки [30]. Показано, что стромальные клетки жировой ткани, меченные красным флуоресцентным белком Turbo FP635, при системном введении способны мигрировать в селезенку, а при системном и местном введении — в костный мозг, легкие и ткани опухоли реципиента.

Биолюминесцентная визуализация (биолюминесцентный имиджинг — БИ). В качестве генетической метки в составе репортерной конструкции при БИ запрограммирована люцифераза — белок, катализирующий реакцию, сопровождающуюся испусканием света — биолюминесценцией [31]. Люцифераза светляка (*Photinus pyralis*) — наиболее распространенный фермент для биолюминесцентной визуализации *in vivo*. Люцифераза окисляет собственный субстрат, люциферин, в присутствии кислорода и АТФ. В результате образуется свечение широкого спектра с пиком при $\lambda=560$ нм. Люцифераза может служить маркером экспрессии различных молекул в отдельных клетках или организме живых лабораторных животных. Для наблюдения за экспрессией молекулы-мишени, маркированной люциферазой, используют биолюминесцентные томографы [32].

Люциферазные репортерные системы позволяют изучать *in vitro* картину генной экспрессии, активность клеточных рецепторов, пути сигнальной передачи, про-

цессинг РНК и белок-белковые взаимодействия [33]. БИ также применяется для характеристики и количественного анализа экспрессии белков после специфического стимулирования [34], а также в изучении процесса апоптоза [35]. К преимуществам метода относятся использование фермента, имеющего высокую специфичность к своему субстрату; отсутствие фонового излучения в живых тканях; высокая чувствительность ($\sim 10^{-15}$ – 10^{-17} М) [36].

БИ используется для визуализации СК при решении разных биомедицинских задач, таких как изучение миграции гемопоэтических СК [37], миграции и пролиферации трансплантированных СК в моделях заболевания мозга [38], участия СК в регенерации сосудов [39], дифференцировки в инсулинпродуцирующие клетки при диабете [40], оценка жизнеспособности кардиомиоцитов, полученных из индуцированных плюрипотентных клеток, в зоне инфаркта при инфаркте миокарда [41].

Например, с помощью БИ была исследована возможность использования мезенхимных клеток-предшественников в качестве переносчиков для генной терапии опухолей [42]. Komarova S., Kawakami Y., Stoff-Khalili M.A. показали привлечение к опухолям мезенхимных клеток предшественников, несущих противопухольные агенты.

С помощью данного метода изучали миграцию и пролиферацию СК в опухоли, было показано привлечение СК, меченных Firefly luciferase, в микроокружение облученных опухолей [43]. S. Kidd с соавт. [44] показали миграцию системно введенных СК человека в легкие, печень и селезенку иммунодефицитных мышей SCID и селективное накопление СК в области развивающихся опухолей.

Метод БИ применяют и для изучения влияния СК на рост опухолей. В исследованиях *in vivo* показана прогрессия роста опухоли при одновременном введении меченных люциферазой опухолевых клеток аденокарциномы человека (Scov-3) и СК человека [45]. С другой стороны, с использованием БИ показано и ингибирующее действие СК на опухолевый рост независимо от опухолевой модели и способа введения СК [46].

Сфера применения БИ в исследованиях продолжает расширяться благодаря техническим усовершенствованиям (например, использование более чувствительных CCD-камер), а также получению и коммерциализации разнообразных модифицированных форм люцифераз и соответствующих им субстратов с оптимизированными свойствами [47].

Прямое сравнение возможностей методов, основанных на биолюминесценции и флюоресценции, для визуализации *in vivo* до сих пор не проводилось. Однако к преимуществам биолюминесценции можно отнести более низкий уровень фона. Преимуществами флюоресценции являются возможность параллельно с анализом *in vivo* исследовать фиксированные ткани, осуществлять другие виды флюоресцентного анализа (цитофлюориметрию и сортировку клеток). Для ФИ не нужен дорогостоящий субстрат, для него существует

большее разнообразие меток, чем для биолюминесценции.

Среди оптических методов визуализации можно выделить группу методов, основанных на использовании различных эффектов взаимодействия света с рассеивающими средами. Это методы оптической томографии.

Оптическая когерентная томография (ОКТ) — высокоразрешающий метод получения изображения внутренней микроструктуры биотканей, основанный на интерферометрическом детектировании обратнорассеянного света ближнего инфракрасного (ИК) диапазона. Данный метод характеризуется высокой разрешающей способностью, визуализацией структуры слоев тканей до 2 мм от поверхности, неинвазивностью, реальным масштабом времени получения информации и быстродействием [48].

Для визуализации СК методом ОКТ используют дополнительные контрастирующие агенты (магнитные микро- и наночастицы). Так, магнитодвижущая ОКТ была успешно использована для визуализации СК, меченных магнитными микро- и наночастицами, на агаровых скаффолдах, получены 3D-сканы и проведен анализ спектров ОКТ-изображений [49]. Метод ОКТ был использован при визуализации фоторецепторов, полученных от предшественников СК, трансплантированных в крыс с дистрофией сетчатки. Совместно с флюоресцентной конфокальной сканирующей лазерной офтальмоскопией метод ОКТ позволяет визуализировать жизнеспособность клеток до 15-го дня после трансплантации [50].

В модели на крысах *in vivo* при трансплантации нейрональных стволовых клеток, трансфицированных нейротрофическим фактором мозга (BDNF), были успешно применены методы ОКТ, томография сетчатки Хайдельберга и иммуногистохимия для оценки жизнеспособности, миграции и дифференцировки нейрональных СК [51].

Основной недостаток ОКТ связан с отсутствием клеточного разрешения, что не позволяет методу полноправно быть названным «оптической биопсией» [48], в связи с чем усилия исследователей направлены на повышение его разрешающей способности. Большое внимание уделяется модификации методик с целью минимизации ограничений ОКТ — применению новых контрастирующих агентов (например, наночастиц), использованию приемов оптического просветления, позволяющих увеличить контраст изображений и глубину ОКТ-зондирования, применению широкополосных источников света (фемтосекундных лазеров) для получения изображения биотканей с разрешением до единиц микрометров [48]. Следует отметить, что ОКТ в основном используется как дополнительная техника для оценки структуры тканей, в которые мигрируют трансплантированные СК, а не как основной вид исследования.

Неоптические методы исследования

К неоптическому имиджингу относится широкий спектр методов, основанных на различных физических

принципах регистрации сигналов, однако для наблюдения СК используются в основном магнитно-резонансная томография и радионуклидные методы. Неоптический имиджинг дает более высокое пространственное разрешение без ограничений по глубине изучаемого объекта, обладает высокой чувствительностью и предоставляет информацию о структурной (органной, тканевой, клеточной, молекулярной) и функциональной составляющих. Кроме того, неоптические методы позволяют обнаружить с высокой контрастностью и разрешением СК не только в условиях эксперимента, но и в условиях клинической практики.

Магнитно-резонансная томография (МРТ) основана на регистрации сигнала от ядер водорода, входящих в состав различных соединений в живом организме, преимущественно молекул воды. Как правило, контраст на основе количества воды используется лишь для создания анатомических изображений, где важную роль играет содержание воды в различных тканях.

В современных исследованиях применяются дополнительные контрасты для МРТ. Соединения на основе гадолиния являются наиболее эффективными контрастными веществами из-за их неспаренных электронов [52, 53]. Хелатные комплексы гадолиния (Gd^{3+}) применяются для маркировки СК [54, 55]. Gd^{3+} -содержащие частицы и макромолекулы используются в качестве нового поколения контрастных агентов [56, 57]. Основным минусом методов, использующих парамагнитные агенты, — недостаточность чувствительности для визуализации единичных клеток [58].

Другой распространенный класс контрастных веществ — суперпарамагнитные частицы оксида железа (SPIOs) [59]. Эти частицы состоят из ядер оксида железа, которые обычно содержат несколько тысяч атомов железа, что увеличивает локальную концентрацию железа и позволяет обнаруживать низкие концентрации клеток [60]. Суперпарамагнитные наночастицы оксида железа (SPIONs) — наиболее предпочтительные контрастные агенты для мониторинга СК вследствие их высокой чувствительности и отличной биосовместимости [61, 62].

В исследованиях применяется и новый класс контрастных агентов, принцип действия которых основан на передаче насыщения за счет химического обмена (CEST) [63]. Эти агенты предоставляют дополнительные возможности, такие как способность выделять в изображении несколько биологических событий сразу или одновременно отслеживать различные клеточные популяции, используя несколько контрастных агентов [64]. Особый интерес представляют PARACEST-агенты, в которых передача насыщения намагниченности осуществляется от ядер координированной воды (воды вблизи парамагнитного центра) к ядрам свободной воды [65].

В детальном обзоре M.F. Kircher с соавт. [66] приведены используемые в МРТ контрастные вещества и рассмотрены различные возможности их применения для визуализации клеток.

Для меченых клеток используются следующие основные приемы: 1) прямое маркирование магнитными

наночастицами, когда контрастные агенты попадают в клетки с помощью поликатионных агентов трансфекции, липосом, «генной пушки», микроинъекции, электропорации или рецептор-опосредованного эндоцитоза; 2) стабильная трансдукция генами-репортерами, кодирующими специфические белки, такие как внутриклеточные металлопротеиназы (трансферрин и ферритин), продуцирующие сигнал за счет внутреннего накопления железа.

Высокая чувствительность, разрешение, специфичность и возможность проведения исследований в динамическом режиме делают МРТ привлекательным для исследования биологии СК методом [67].

В работе [68] СК свиней были трансдуцированы человеческим ферритином. В искусственно созданной *in vivo* модели инфаркта миокарда свиней трансплантированные СК были обнаружены с помощью МРТ через 4 нед. Показано, что ферритин не оказывал никакого эффекта на репаративный или дифференцировочный потенциалы СК. В определенных случаях данный метод маркировки является предпочтительнее прямого меченя, поскольку зависит от экспрессии гена, коррелирующей с жизнеспособностью клеток и предоставляющей больше функциональной информации.

Работы по использованию человеческих СК показали, что при маркировке SPIOs частицами СК сохраняют способность к выживанию, миграции, интеграции после трансплантации *in vivo*, что позволяет отслеживать судьбу меченых клеток при различных условиях введения с течением времени [69], а также в различных моделях опухолей мышей, крыс, кроликов и свиней [70]. На модели рака груди человека с помощью МРТ показан хоминг человеческих СК, меченных SPIOs, к легочным метастазам [71]. Продемонстрирован трекинг малых клеточных популяций меченых нейтральных СК в экспериментальной модели инсульта [72]. Чувствительность метода МРТ оказалась достаточной для обнаружения 1000 меченых СК при коинъекции с клетками рака груди в модели подкожной опухоли [73]. В работе Y. Watada с соавт. [74] проведен МРТ-мониторинг СК, трансплантированных в ушную улитку и меченных SPIOs-частицами через 4 нед после трансплантации.

Соединения на основе хелатных комплексов гадолиния также применяются при изучении миграции и дифференцировки СК различного происхождения и в различных моделях. Одно из широко используемых веществ — соединение гадолиния с диэтилентриаминпентауксусной кислотой ($Gd-DTPA$). В работе [75] показана возможность его применения для отслеживания меченых мезенхимных СК *in vivo* вследствие большой интенсивности сигнала и отсутствия влияния на жизнеспособность и пролиферацию клеток. Авторы [76] использовали три $Gd-DOTA$ -пептидных комплекса (1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecane-N, N', N', N'-tetraacetic acid) в качестве контрастного агента для маркировки мезенхимных СК.

В обзоре [77] рассмотрены уникальные возможности для использования CEST-контрастных веществ, описаны их физические свойства и ключевые особенности, а в работе [78] подробно изложены также ин-

трументальные решения для скрининга CEST-агентов методом МРТ. Авторами [79] продемонстрированы возможности CEST для визуализации динамических изменений в бесклеточных гидрогелевых компонентах *in vivo*. Композитные гидрогели используют в регенеративной медицине как каркасные структуры, имитирующие ткани, для улучшения выживаемости СК.

Недостатком метода МРТ является проблема наличия артефактов на изображениях. Ее решением стала разработка агента на основе наночастиц для двухрежимной фильтрации артефактов МРТ-изображений (AFIA), который содержит комбинацию парамагнитных и суперпарамагнитных наноматериалов [80]. С использованием AFIA были устранены артефакты в необработанных изображениях, что повысило точность МРТ. Авторы продемонстрировали фильтрационную способность AFIA на образцах *in vitro* и потенциальную возможность визуализации без артефактов миграции СК *in vivo*.

В основе **радионуклидного имиджинга (РИ)** лежит способность специального детектирующего оборудования отслеживать распределение в организме радиоактивно-меченных биологически активных соединений, которые позволяют изучать такие процессы, как метаболизм, транспорт веществ, лиганд-рецепторные взаимодействия, экспрессию генов. Данный метод имеет очень высокую чувствительность ($<10^{-9}\text{M}$) и способен визуализировать биологически активные соединения при очень низких концентрациях.

Для контрастирования в РИ также используются две основные стратегии: прямое мечение радиоактивной меткой и мечение с использованием репортерных генов.

В РИ применяются два основных томографических метода: однофотонная эмиссионная компьютерная томография и позитронная эмиссионная томография [81].

Однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОЭКТ) основана на фиксации радиоактивности вокруг исследуемого объекта гамма-камерой при различных углах так, что можно реконструировать секционное изображение. ОЭКТ позволяет получать объемное изображение распределения радионуклидов, относящихся к чистым гамма-излучателям: технеция-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), индия-111 (^{111}In), йода-123 (^{123}I), йода-131 (^{131}I), а также короткоживущих и ультракороткоживущих изотопов: кислорода-15 (^{15}O), углерода-11 (^{11}C), азота-13 (^{13}N), фтора-18 (^{18}F) [82].

Перспективным направлением является использование радиофармацевтических препаратов (РФП), которые имеют в своем составе радионуклиды. РФП накапливаются только в органах и структурах, предназначенных для визуализации, а накопление может обуславливаться метаболическими процессами в ткани либо локальной перфузией органа. РФП получают при помощи радиохимического синтеза: радионуклид «встраивается» в химическое вещество. К сложностям производства относятся подготовка радионуклида и оценка периода его полураспада [83].

ОЭКТ чаще используют для изучения миграции лей-

коцитов, однако эти данные могут быть перенесены и на исследования миграции СК [84].

Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) — метод радиоизотопной диагностики. Он основан на использовании испускаемых радионуклидами позитронов. Позитронизлучающие радиоизотопы производят высокоэнергетические гамма-лучи, которые способны глубоко проникать в ткани, что обуславливает возможность применения такого подхода для исследований не только на мелких животных, но и на человеке [85]. РФП на основе технеция ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), например 99mTc-НМРАО (99mTc-hexamethylpropyleneamineoxime, который используется для короткого времени отслеживания СК *in vivo* (период полураспада — около 6 ч)), обеспечивает высокую контрастность изображения [86].

В ПЭТ применяются также технологии репортерных генов. Такие гены делят на три различных класса: кодирующие (рецепторы), ферменты и белки-переносчики. При использовании рецептор-основанных репортеров радиоактивная метка связывается с рецептором допамина, который кодирует репортерный ген. Ферментосвязанные системы используют репортерный ген для продукции специфических ферментов, которые модифицируют радиоактивную метку, препятствуя ее выходу из клетки. Третий класс репортерных генов кодируют белки-переносчики радиоактивных меток (симпортеры) [87]. Системы репортерных генов позволяют оценить распределение введенных клеток в режиме реального времени в течение продолжительного периода. Преимущество данного метода — дополнительная возможность изучения функциональной активности и жизнеспособности клеток. В настоящее время одним из самых распространенных генов-репортеров для ПЭТ является тимидинкиназа вируса простого герпеса первого типа (HSV1-tk) и ее мутант (HSV1-sr39tk). Этот фермент фосфорилирует пиримидиновые и адениновые основания и успешно используется в сочетании с радиоактивно-меченными зондами-репортерами, такими как ^{124}I -2-fluoro-2-deoxy-1-D-arabinofuranosyl-5-iodouracil (FIAU), ^{18}F -2-fluoro-2-deoxy-1-D-arabinofuranosyl-5-ethyluracil (FEAU) и 9-(4- ^{18}F -fluoro-3-hydroxymethyl-butyl) guanine (^{18}F -FHBG) [88, 89].

С использованием метода ПЭТ показана миграция СК к подкожной опухоли аденокарциномы кишечника и их пролиферация [90]. Наблюдение за мечеными изотопами меди и кобальта крысиными СК продолжалось более месяца.

Неоптические методы исследования миграции СК нашли широкое применение в научных и клинических исследованиях, однако спектр их использования зависит от конкретных задач. Метод МРТ практически не имеет ограничений по объему и глубине изучаемого объекта, поэтому отлично подходит для исследования целого организма. При этом пространственное разрешение МРТ составляет от 10 до 300 мкм, а средний размер клеток — 5–50 мкм, поэтому она может применяться для исследования миграции даже единичных трансплантированных клеток. К достоинствам МРТ можно отнести и персистентность метки. Однако этим методом сложно

оценить состояние первоначально введенных клеток. Кроме того, сохранность метки может выступать и как недостаток, поскольку резидентные макрофаги могут поглощать умершие трансплантированные клетки, приводя к ложноположительному сигналу.

ОЭКТ и ПЭТ позволяют проводить количественную оценку клеток и имеют низкий фоновый сигнал, однако по сравнению с МРТ и методами оптического имиджинга обладают рядом недостатков: низким пространственным разрешением (не позволяет установить точную локализацию трансплантированных клеток в органе); радиационной нагрузкой; коротким периодом жизни радиоизотопов, который ограничивает продолжительность отслеживания клеток; неспецифическим поглощением радионуклидов нормальными тканями внутренних органов (почек, печени). Несомненное преимущество ПЭТ — более высокая чувствительность, чем у ОЭКТ, что позволяет гораздо точнее оценить число меченых СК.

Гибридные методы исследования

К гибридным методам исследования можно отнести **фотоакустический имиджинг (ФАИ)** — гибридную технологию, которая формирует изображения на основе регистрации ультразвуковых волн, генерируемых термоупругим расширением тканей, индуцированным оптическим излучением [91]. Для этого представляющий интерес объект освещают коротким лазерным импульсом, энергия лазера поглощается внутренними структурами объекта, что приводит к быстрому повышению температуры и тепловому расширению. Тепловое расширение вызывает распространение ультразвуковых волн сквозь объект, при этом волны принимаются ультразвуковыми преобразователями, расположенными на поверхности объекта. Полученные сигналы обрабатывают для получения карты распределения зон поглощения внутри объекта на длине волны лазерного излучения. Механизм контрастирования в ФАИ заключается в оптическом поглощении возбужденного света хромофорами эндогенного или экзогенного происхождения [92].

ФАИ может быть разделен на два основных направления: **фотоакустическую томографию (ФАТ)** и **фотоакустическую микроскопию (ФАМ)** [93].

ФАТ основана на регистрации акустических сигналов внутри объекта, на который воздействовали импульсным лазером [94]. Она может формировать 3D-изображения в режиме реального времени с глубиной визуализации до нескольких сантиметров [95], однако не способна обеспечить изображения с клеточным разрешением. В ультразвуковой детекции ФАТ используется контактный режим детектирования из-за сильного затухания ультразвуковых волн, которое возникает в воздухе между образцом и акустическим преобразователем. Это существенно ограничивает применение ФАТ в биомедицинских исследованиях [96].

Высокое разрешение в ФАМ основано на узкой оптической фокусировке возбуждающего света. В ФАМ выделяют отдельное направление — оптико-разрешен-

ную фотоакустическую микроскопию (ОР ФАМ) [97], которая может достигать пространственного разрешения в несколько микрометров с глубиной проникновения сигнала в ткани мозга до 1 мм [98]. С помощью ОР ФАМ можно получить изображения, основанные на способности к поглощению света определенной длины волны различных клеточных компонентов — эндогенных маркеров, таких как ДНК и РНК, цитохромы, миелин, меланин, гемоглобин [99]. Это позволяет определить жизнеспособность клеток, состояние компонентов клеточной оболочки и, по возможности, оценить клеточный метаболизм через соотношения восстановленных и окисленных форм цитохромов [100].

Контрастирующие агенты для ФАИ принадлежат как к группе эндогенных, так и экзогенных маркеров. В ФАИ применяются различные экзогенные контрастирующие вещества, которые относят к пяти основным группам: молекулярные флуоресцентные красители (ICG, AlexaFluor 750, BNQ3, QXL680, IRDye800CW, MMPsense™), плазмонно-резонансные частицы благородных металлов (золотые и серебряные наночастицы), наночастицы, основанные на других принципах воздействия (квантовые точки, флуоресцентные силикатные наночастицы), мультимодальные контрастирующие агенты (хелатные комплексы гадолиния, однослойные углеродные нанотрубки) и контрастирующие агенты для тераностики (SPIOs, золотые, наночастицы диоксида кремния) [101].

Метод ФАИ находит широкое применение в различных областях клеточной терапии. Большой цикл работ посвящен изучению регенераторных функций СК в патологических очагах различного происхождения. Например, L.M. Ricles с соавт. [102] *in vitro* применили мечение мезенхимных СК крыс и макрофагов золотыми наночастицами, а на модели ишемии задних конечностей крыс доказали возможность наблюдения за мечеными СК *in vivo*, а также способность количественного определения инфильтрации патологических очагов макрофагами, используя ФАИ для проведения эксперимента, а методы гистологии и масс-спектрометрии — для верификации полученных результатов.

Неинвазивный мониторинг СК, используемых для ускорения заживления поверхностных повреждений кожи (ожогов, трофических язв и т.д.), также широко востребован и применяется как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях. Примером этого направления может служить работа [103], где методом ФАИ были оценены структурные повреждения тканей и кровоснабжения эпидермиса и дермы в модели кожного ожога у крыс до и после имплантации 3D-скаффолдов фибринового геля с СК жировой ткани, мечеными золотыми наночастицами.

Крайне интересно новое, активно развивающееся направление ФАИ — **фотоакустическая проточная цитометрия (ФАПЦ)**, которое направлено на детекцию контрастированных экзогенными метками клеток в потоке физиологической жидкости (крови, лимфе, спинномозговой жидкости) [104]. С помощью этого метода определяют наличие маркеров лейкоза, карцином, ме-

ланом, стволовых раковых клеток в доклинических моделях на животных [105].

Таким образом, можно смело утверждать, что ФАИ имеет большой потенциал для широкого применения в клеточной терапии: от мониторинга в терапии СК и тканевой инженерии на молекулярном уровне до детекции отдельных клеток в потоке жидкости на уровне целого организма — вследствие его неинвазивности, безопасности, селективности и способности обеспечить долгосрочный мониторинг процессов.

Методы мультимодального имиджинга

Мультимодальный имиджинг включает два или более метода визуализации для наблюдения одного и того же объекта и получения интегрированных данных (на нескольких уровнях организации), которые могут дополнять друг друга и обеспечивать полную информацию об исследуемом объекте. Наиболее часто в исследованиях сочетают методы из двух различных групп, например оптические с неоптическими, однако сочетание методов внутри одной группы также возможно.

Сочетание оптических и неоптических методов наиболее часто применяется при исследовании миграции СК в организме реципиента, поскольку обеспечивает одновременно высокое пространственное разрешение, высокую чувствительность при наблюдении и показывает точную локализацию СК.

Ф. Сао с соавт. [106] успешно оценили жизнеспособность, пролиферацию и миграцию после интракардиального введения мышинных эмбриональных СК, трансфицированных одновременно тремя генами-репортерами (RFP, Luciferase и HSV1-tk) с помощью методов БИ и ПЭТ.

Авторы [107] использовали мультимодальный имиджинг и технологию трансфекции различными генами-репортерами для мониторинга трансплантированных нейрональных клеток-предшественников (NPCs) и их функционального статуса. Они исследовали NPCs, экспрессирующие гены HSV1-tk, GFP и люциферазы светлячка (Fluc), в культуре и в моделях глиомы *in vivo* также с использованием методов БИ и ПЭТ.

С применением флуоресцентной молекулярной томографии и ПЭТ в присутствии трейсеров на основе антител СК опухоли были детектированы в подкожных и ортотопически привитых глиомах [108].

С использованием МРТ и БИ проведена комплексная оценка трансплантированных эмбриональных СК мыши, несущих двойную метку (суперпарамагнитный оксид железа и люциферазу), в модели инфаркта миокарда. С помощью МРТ определена точная анатомическая локализация СК в зоне миокарда, с помощью БИ оценена жизнеспособность СК, введенных в зону инфаркта миокарда [109].

МРТ и БИ были успешно использованы для наблюдения мезенхимных СК костного мозга, меченных генами-репортерами (Firefly Luciferase и GFP) и частицами оксида железа, трансплантированных в ЦНС иммунокомпетентных мышей [110].

Сочетание неоптических методов дает возможность параллельно изучить жизнеспособность и локализацию СК.

Комбинация техник ОЭКТ и МРТ позволила наблюдать трекинг внутрибрюшинно введенных мезенхимных СК костного мозга человека в мышах с нейробластомой и установить накопление в опухоли мезенхимальных СК, меченных ^{111}In -оксином, через 48 ч после трансплантации [111].

В работе [112] СК костного мозга, меченные оксидом железа и имплантированные в полосатое тело крыс в модели болезни Паркинсона, визуализировали с использованием МРТ, которая показала присутствие меченых мезенхимальных СК в пораженной зоне до 28 дней после трансплантации. Функциональная активность экзогенно введенных клеток, меченных РФП, была эффективно оценена методом ПЭТ.

Сочетание оптических методов дает возможность в одно и то же время с высокой чувствительностью исследовать распределение малых популяций СК в течение долгого времени, колокализацию и взаимодействие СК с микроокружением в различных моделях патологического процесса.

ФИ и БИ были успешно использованы для изучения распределения и дифференцировки СК в мышах с опухолью [113]. Авторы применяли опухолевые и стволо-

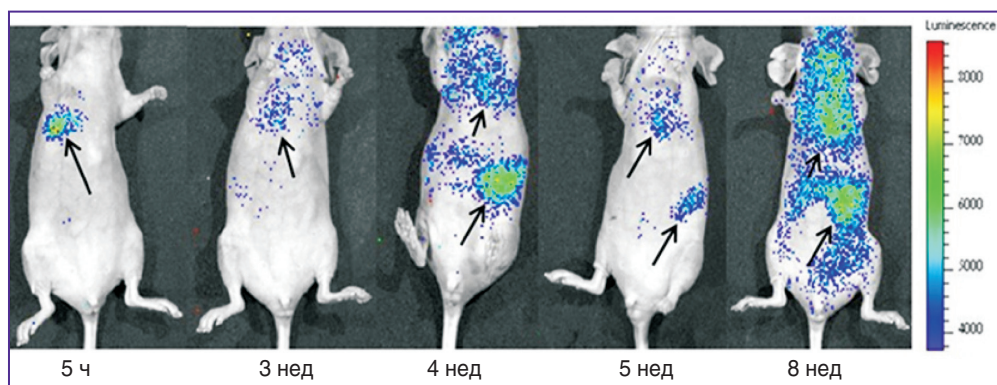


Рис. 1. *In vivo* биOLUMИнесцентный имиджинг стволовых клеток (указаны стрелками), меченных геном люциферазы, в мышах с легочными метастазами [114]

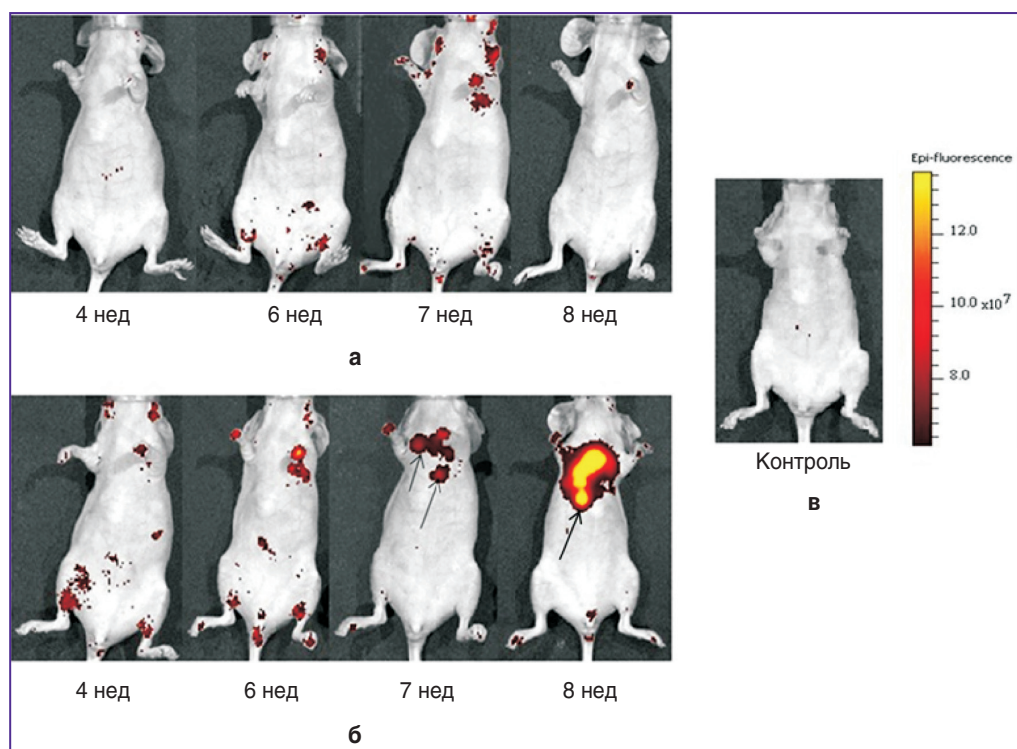


Рис. 2. *In vivo* флюоресцентный имиджинг формирования метастазов в легких животных: *а* — с введением опухолевых клеток, меченных красным флюоресцентным белком и стволовыми клетками; *б* — с введением только опухолевых клеток, меченных красным флюоресцентным белком; *в* — без введения каких-либо клеток. Стрелками указаны метастазы [114]

вые клетки, меченные различными генами-репортерами (флюоресцентными и билюминесцентными).

В работе [114] с помощью методов ФИ и БИ *in vivo* показано влияние мезенхимных СК костного мозга человека на формирование метастазов в иммунодефицитных мышах в модели рака молочной железы. Были использованы СК, меченные геном люциферазы, и опухолевые клетки, несущие красный флюоресцентный белок. БИ *in vivo* выявил распределение СК в легкие и органы брюшной полости на 2-й и 3-й неделях после трансплантации и последующую ремиграцию СК в легкие на 6–7-й неделе (рис. 1). С использованием ФИ установлено ингибирующее действие СК на образование метастазов в легких (рис. 2).

Подобный комплексный подход при получении данных о местоположении и состоянии СК может минимизировать потенциальные недостатки использования отдельного метода и обеспечить идеальный информационный профиль для клинического и научного применения.

Заключение

Быстрый прогресс в разработке маркеров наряду с усовершенствованием систем визуализации *in vivo* позволяет достоверно изучать направление и эффективность миграции СК. Изучение миграции СК в условиях клиники и эксперимента имеет существенные

различия. Главными критериями в клинических условиях служат биосовместимость, безопасность, нетоксичность, неинвазивность. Соответственно, основными критериями для экспериментальных методов изучения миграции будут являться точность, возможность количественной и достаточно длительной оценки миграции клеток, стабильность «метки» [115].

В настоящее время разработаны методы визуализации клеток и их структур *in vivo*, удовлетворяющие требованиям как фундаментальных, так и клинических исследований. Широкий выбор показателей чувствительности, разрешения, глубины проникновения в ткани, специфичности позволяет подобрать оптимальные условия для проведения исследования (делая поправку на особенности экспериментальной модели). Разнообразные подходы дают возможность осуществлять анатомические, физиологические, фармакологические и молекулярные исследования, причем в некоторых случаях методы могут быть удачно скомбинированы. В данный момент системы визуализации *in vivo* продолжают активно совершенствоваться: появляются более чувствительные приборы, создаются новые молекулярные метки, разрабатываются современные стратегии внедрения их в клетку.

Финансирование исследования. Основная часть работы выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №14-15-00536); работа по характеристике, сравнению методов био-

люминесцентного имиджинга и описанию биолюминесцентных контрастирующих агентов выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках государственного задания по выполнению работ в сфере научной деятельности (базовая часть) №2014/134 (проект №2460).

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература/References

- Acton P.D., Zhou R. Imaging reporter genes for cell tracking with PET and SPECT. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2005; 49(4): 349–360.
- Chiu R.C. Bone-marrow stem cells as a source for cell therapy. *Heart Fail Rev* 2003; 8(3): 247–251.
- Li Z., Wu J.C., Sheikh A.Y., Kraft D., Cao F., Xie X., Patel M., Gambhir S.S., Robbins R.C., Cooke J.P., Wu J.C. Differentiation, survival, and function of embryonic stem cell derived endothelial cells for ischemic heart disease. *Circulation* 2007; 116(11 Suppl): I-46–I-54, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.680561>.
- Cao F., Lin S., Xie X., Ray P., Patel M., Zhang X., Drukker M., Dylla S.J., Connolly A.J., Chen X., Weissman I.L., Gambhir S.S., Wu J.C. In vivo visualization of embryonic stem cell survival, proliferation, and migration after cardiac delivery. *Circulation* 2006; 113(7): 1005–1014, <http://dx.doi.org/10.1161/circulationaha.105.588954>.
- van der Bogt K.E.A., Sijmenburg R.J., Cao F., Wu J.C. Molecular imaging of human embryonic stem cells: keeping an eye on differentiation, tumorigenicity and immunogenicity. *Cell Cycle* 2006; 5(23): 2748–2752, <http://dx.doi.org/10.4161/cc.5.23.3533>.
- Chang G.Y., Xie X., Wu J.C. Overview of stem cells and imaging modalities for cardiovascular diseases. *J Nucl Cardiol* 2006; 13(4): 554–569, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nuclcard.2006.05.012>.
- Kim D.E., Schellingerhout D., Ishii K., Shah K., Weissleder R. Imaging of stem cell recruitment to ischemic infarcts in a murine model. *Stroke* 2004; 35(4): 952–957, <http://dx.doi.org/10.1161/01.str.0000120308.21946.5d>.
- Zhao C., Tian M., Zhang H. In vivo stem cell imaging. *Open Nucl Med J* 2010; 2: 171–177, <http://dx.doi.org/10.2174/1876388X01002010171>.
- Frangioni J.V., Hajar R.J. In vivo tracking of stem cells for clinical trials in cardiovascular disease. *Circulation* 2004; 110(21): 3378–3383, <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.0000149840.46523.fc>.
- Tong L., Zhao H., He Z., Li Z. Current perspectives on molecular imaging for tracking stem cell therapy. In: *Medical imaging in clinical practice*. Okechukwu F.E. (editor). InTech; 2013; p. 73–79, <http://dx.doi.org/10.5772/53028>.
- Chen Z.-Y., Wang Y.-X., Yang F., Lin Y., Zhou Q.-L., Liao Y.-Y. New researches and application progress of commonly used optical molecular imaging technology. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 429198, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/429198>.
- Gao Y., Cui Y., Chan J., Xu C. Stem cell tracking with optically active nanoparticles. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 2013; 3(3): 232–246.
- Reagan M.R., Kaplan D.L. Concise review: mesenchymal stem cell tumor-homing: detection methods in disease model systems. *Stem Cells* 2011; 29(6): 920–927, <http://dx.doi.org/10.1002/stem.645>.
- Соловьева А.О., Зубарева К.Э., Повещенко А.Ф., Нечаева Е.А., Коненков В.И. Способы меченая клеток для визуализации in vivo. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2013; VIII(4): 33–38. Solovieva A.O., Zubareva K.E., Poveshchenko A.F., Nechaeva E.A., Konenkov V.I. Methods of cells labeling for visualization in vivo. *Kletochhnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya* 2013; VIII(4): 33–38.
- Колтовой Н.А., Краевой С.А. Флуоресцентные методы диагностики в медицине. М: Bookvika.ru; 2014; 228 с. Koltovoy N.A., Kraevoy S.A. *Fluorestsentye metody diagnostiki v meditsine* [Fluorescent diagnostics in medicine]. Moscow: Bookvika.ru; 2014; 228 p.
- Parish C.R. Fluorescent dyes for lymphocyte migration and proliferation studies. *Immunol Cell Biol* 1999; 77(6): 499–508, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1440-1711.1999.00877.x>.
- Li P., Zhang R., Sun H., Chen L., Liu F., Yao C., Du M., Jiang X. PKH26 can transfer to host cells in vitro and vivo. *Stem Cells Dev* 2013; 22(2): 340–344, <http://dx.doi.org/10.1089/scd.2012.0357>.
- Weston S.A., Parish C.R. New fluorescent dyes for lymphocyte migration studies: analysis by flow cytometry and fluorescence microscopy. *J Immunol Methods* 1990; 133(1): 87–97, [http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(90\)90322-M](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(90)90322-M).
- Leiker M., Suzuki G., Iyer V.S., Cauty J.M. Jr., Lee T. Assessment of a nuclear affinity labeling method for tracking implanted mesenchymal stem cells. *Cell Transplant* 2008; 17(8): 911–922, <http://dx.doi.org/10.3727/096368908786576444>.
- Wang Y., Xu C., Ow H. Commercial nanoparticles for stem cell labeling and tracking. *Theranostics* 2013; 3(8): 544–559, <http://dx.doi.org/10.7150/thno.5634>.
- Гусев А.И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. М: Физматлит; 2005; 416 с. Gusev A.I. *Nanomaterialy, nanostruktury, nanotekhnologii* [Nanomaterials, nanostructures, nanotechnology]. Moscow: Fizmatlit; 2005; 416 p.
- Зиганшин А.У., Зиганшина Л.Е. Наночастицы: фармакологические надежды и токсикологические проблемы. Казанский медицинский журнал 2008; 89(1): 1–7. Ziganshin A.U., Ziganshina L.E. Nanoparticles: pharmacological expectancies and toxicological problems. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal* 2008; 89(1): 1–7.
- Burns A., Ow H., Wiesner U. Fluorescent core-shell silica nanoparticles: towards “Lab on a Particle” architectures for nanobiotechnology. *Chem Soc Rev* 2006; 35(11): 1028–1042, <http://dx.doi.org/10.1039/B600562B>.
- Ремпель А.А. Квантовые точки для техники и медицины. Вестник Уральского отделения РАН 2010; 32(2): 45–51. Rempel' A.A. Quantum dots for technology and medicine. *Vestnik Ural'skogo otdeleniya RAN* 2010; 32(2): 45–51.
- Rodriguez-Porcel M. In vivo imaging and monitoring of transplanted stem cells: clinical applications. *Curr Cardiol Rep* 2010; 12(1): 51–58, <http://dx.doi.org/10.1007/s11886-009-0073-1>.
- Морозова Е.С., Верхуша В.В., Перский Е.Э. Флуоресцентные белки красной спектральной области. Вісник Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна Сер. Біологія 2009; 856(9): 29–38. Morozova E.S., Verkhusha V.V., Perskiy E.E. Fluorescent proteins of the red spectral region. *Visnyk Harkivs'kogo natsional'nogo universytetu im. V.N. Karazina Ser. Biologiya* 2009; 856(9): 29–38.
- Kuo C., Coquoz O., Troy T.L., Xu H., Rice B.W. Three-dimensional reconstruction of in vivo bioluminescent sources based on multi-spectral imaging. *J Biomed Opt* 2007; 12(2): 1–12, <http://dx.doi.org/10.1117/1.2717898>.
- Li Z., Liao W., Cui X., Zhao Q., Liu M., Chen Y., Liu T., Liu N., Wang F., Yi Y., Shao N. Intravenous transplantation of allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells and its directional migration to the necrotic femoral head. *Int J Med Sci* 2011; 8(1): 74–83, <http://dx.doi.org/10.7150/ijms.8.74>.

29. Wolf D., Rumpold H., Koeck R. Re: Mesenchymal stem cells: potential precursors for tumor stroma and targeted-delivery vehicles for anticancer agents. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(7): 540–542, <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/dji088>.
30. Meleshina A.V., Cherkasova E.I., Sergeeva E.A., Kleshnin M.S., Turchin I.V., Kiseleva E.V., Dashinimaev E.V., Shirmanova M.V., Lukyanov S.A., Zagaynova E.V. The study of the interaction of mesenchymal stem cells and the tumor using the methods of fluorescent bioimaging. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2012; 4: 7–16.
31. Konopka R., Hýzdalová M., Kubala L., Pacherník J. New luminescence-based approach to measurement of luciferase gene expression reporter activity and adenosine triphosphate-based determination of cell viability. *Folia Biol (Praha)* 2010; 56(2): 66–71.
32. Kuchmiy A.A., Efimov G.A., Nedospasov S.A. Methods for in vivo molecular imaging. *Biochemistry (Moscow)* 2012; 77(12): 1339–1353, <http://dx.doi.org/10.1134/s0006297912120012>.
33. Marques S.M., Esteves da Silva J.C.G. Firefly bioluminescence: a mechanistic approach of luciferase catalyzed reactions. *IUBMB Life* 2009; 61(1): 6–17, <http://dx.doi.org/10.1002/iub.134>.
34. Sato A., Klaunberg B., Tolwani R. In vivo bioluminescence imaging. *Comp Med* 2004; 54(6): 631–634.
35. Hickson J., Ackler S., Klaubert D., Bouska J., Ellis P., Foster K., Aleksijew A., Rodriguez L., Schlessinger S., Wang B., Frost D. Noninvasive molecular imaging of apoptosis in vivo using a modified firefly luciferase substrate, Z-DEVD-aminoluciferin. *Cell Death Differ* 2010; 17(6): 1003–1010, <http://dx.doi.org/10.1038/cdd.2009.205>.
36. Paroo Z., Bollinger R.A., Braasch D.A., Richer E., Corey D.R., Antich P.P., Mason R.P. Validating bioluminescence imaging as a high-throughput, quantitative modality for assessing tumor burden. *Mol Imaging* 2004; 3(2): 117–124, <http://dx.doi.org/10.1162/1535350041464865>.
37. Lin Y., Molter J., Lee Z., Gerson S.L. Bioluminescence imaging of hematopoietic stem cell repopulation in murine models. *Methods Mol Biol* 2008; 430: 295–306, http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-182-6_20.
38. Tennstaedt A., Aswendt M., Adamczak J., Hoehn M. Noninvasive multimodal imaging of stem cell transplants in the brain using bioluminescence imaging and magnetic resonance imaging. *Methods Mol Biol* 2013; 1052: 153–166, http://dx.doi.org/10.1007/7651_2013_14.
39. Huang N.F., Okogbaa J., Babakhanyan A., Cooke J.P. Bioluminescence imaging of stem cell-based therapeutics for vascular regeneration. *Theranostics* 2012; 2(4): 346–354, <http://dx.doi.org/10.7150/thno.3694>.
40. Lee S., Youn H., Chung T., Hwang do W., Oh S.W., Kang K.W., Chung J.-K., Lee D.S. In vivo bioluminescence imaging of transplanted mesenchymal stem cells as a potential source for pancreatic regeneration. *Mol Imaging* 2014; 13: 1–12.
41. Lepperhof V., Polchynski O., Kruttwig K., Brüggemann C., Neef K., Drey F., Zheng Y., Ackermann J.P., Choi Y.H., Wunderlich T.F., Hoehn M., Hescheler J., Sarić T. Bioluminescent imaging of genetically selected induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes after transplantation into infarcted heart of syngeneic recipients. *PLoS One* 2014; 9(9): e107363, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0107363>.
42. Komarova S., Kawakami Y., Stoff-Khalili M.A., Curiel D.T., Pereboeva L. Mesenchymal progenitor cells as cellular vehicles for delivery of oncolytic adenoviruses. *Mol Cancer Ther* 2006; 5(3): 755–766, <http://dx.doi.org/10.1158/1535-7163.mct-05-0334>.
43. Klopp A.H., Spaeth E.L., Dembinski J.L., Woodward W.A., Munshi A., Meyn R.E., Cox J.D., Andreeff M., Marini F.C. Tumor irradiation increases the recruitment of circulating mesenchymal stem cells into the tumor microenvironment. *Cancer Res* 2007; 67(24): 11687–11695, <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1406>.
44. Kidd S., Spaeth E., Dembinski J.L., Dietrich M., Watson K., Klopp A., Battula V.L., Weil M., Andreeff M., Marini F.C. Direct evidence of mesenchymal stem cell tropism for tumor and wounding microenvironments using in vivo bioluminescent imaging. *Stem Cells* 2009; 27(10): 2614–2623, <http://dx.doi.org/10.1002/stem.187>.
45. Spaeth E.L., Dembinski J.L., Sasser A.K., Watson K., Klopp A., Hall B., Andreeff M., Marini F. Mesenchymal stem cell transition to tumor-associated fibroblasts contributes to fibrovascular network expansion and tumor progression. *PLoS One* 2009; 4(4): e4992, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0004992>.
46. Kéramidas M., Fraipont F., Karageorgis A., Moisan A., Persoons V., Richard M.-J., Coll J.-L., Rome C. The dual effect of mesenchymal stem cells on tumour growth and tumour angiogenesis. *Stem Cell Res Ther* 2013; 4(2): 41, <http://dx.doi.org/10.1186/scrt195>.
47. Miraglia L., King F., Damoiseaux R. Seeing the light: luminescent reporter gene assays. *Comb Chem High Throughput Screen* 2011; 14(8): 648–657, <http://dx.doi.org/10.2174/138620711796504389>.
48. Руководство по оптической когерентной томографии. Под ред. Гладковой Н.Д., Шаховой Н.Д., Сергеева А.М. М: Физматлит, Медкнига; 2007; 296 с. *Rukovodstvo po opticheskoy kogerentnoy tomografii* [Handbook of optical coherence tomography]. Pod red. Gladkovoy N.D., Shakhovoy N.M., Sergeeva A.M. [Gladkova N.D., Shakhova N.M., Sergeev A.M. (editors)]. Moscow: Fizmatlit, Medkniга; 2007; 296 p.
49. Cimalla P., Werner T., Winkler K., Mueller C., Wicht S., Gaertner M., Mehner M., Walther J., Rellinghaus B., Wittig D., Karl M.O., Ader M., Funk R.H., Koch E. Imaging of nanoparticle-labeled stem cells using magnetomotive optical coherence tomography, laser speckle reflectometry, and light microscopy. *J Biomed Opt* 2015; 20(3): 036018, <http://dx.doi.org/10.1117/1.JBO.20.3.036018>.
50. Laver C.R.J., Metcalfe A.L., Szczygiel L., Yanai A., Sarunic M.V., Gregory-Evans K. Bimodal in vivo imaging provides early assessment of stem-cell-based photoreceptor engraftment. *Eye (Lond)* 2015; 29(5): 681–690, <http://dx.doi.org/10.1038/eye.2015.24>.
51. Zhou X., Sun J., Yuan H., Wu D., Zhou X., Sun D., Li H., Shao Z., Zhang Z. A rat model for studying neural stem cell transplantation. *Acta Pharmacol Sin* 2009; 30(11): 1496–1504, <http://dx.doi.org/10.1038/aps.2009.151>.
52. Liu G., Wang Z., Lu J., Xia C., Gao F., Gong Q., Song B., Zhao X., Shuai X., Chen X., Ai H., Gu Z. Low molecular weight alkyl-polycation wrapped magnetite nanoparticle clusters as MRI probes for stem cell labeling and in vivo imaging. *Biomaterials* 2011; 32(2): 528–537, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.08.099>.
53. Rudelius M., Daldrup-Link H.E., Heinzmann U., Piontek G., Settles M., Link T.M., Schlegel J. Highly efficient paramagnetic labelling of embryonic and neuronal stem cells. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003; 30(7): 1038–1044, <http://dx.doi.org/10.1007/s00259-002-1110-0>.
54. Kim K.S., Park W., Na K. Gadolinium-chelate nanoparticle entrapped human mesenchymal stem cell via photochemical internalization for cancer diagnosis. *Biomaterials* 2015; 36: 90–97, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.09.014>.
55. Liu Y., He Z.J., Xu B., Wu Q.Z., Liu G., Zhu H., Zhong Q., Deng D.Y., Ai H., Yue Q., Wei Y., Jun S., Zhou G., Gong Q.Y.

Evaluation of cell tracking effects for transplanted mesenchymal stem cells with jetPEI/Gd-DTPA complexes in animal models of hemorrhagic spinal cord injury. *Brain Res* 2011; 1391: 24–35, <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2011.03.032>.

56. Lin G., Zhu W., Yang L., Wu J., Lin B., Xu Y., Cheng Z., Xia C., Gong Q., Song B., Ai H. Delivery of siRNA by MRI-visible nanovehicles to overcome drug resistance in MCF-7/ADR human breast cancer cells. *Biomaterials* 2014; 35(35): 9495–9507, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.07.049>.

57. Tseng C.L., Shih I.L., Stobinski L., Lin F.H. Gadolinium hexanediol nanoparticles for stem cell labeling and tracking via magnetic resonance imaging. *Biomaterials* 2010; 31(20): 5427–5435, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.03.049>.

58. Arbab A.S., Liu W., Frank J.A. Cellular magnetic resonance imaging: current status and future prospects. *Expert Rev Med Devices* 2006; 3(4): 427–439, <http://dx.doi.org/10.1586/17434440.3.4.427>.

59. Wang Y.X., Hussain S.M., Krestin G.P. Superparamagnetic iron oxide contrast agents: physicochemical characteristics and applications in MR imaging. *Eur Radiol* 2001; 11(11): 2319–2331, <http://dx.doi.org/10.1007/s003300100908>.

60. Bull E., Madani S.Y., Sheth R., Seifalian A., Green M., Seifalian A.M. Stem cell tracking using iron oxide nanoparticles. *Int J Nanomedicine* 2014; 9(1): 1641–1653, <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S48979>.

61. Yang C.Y., Tai M.F., Chen S.T., Wang Y.T., Chen Y.F., Hsiao J.K., Wang J.L., Liu H.M. Labeling of human mesenchymal stem cell: comparison between paramagnetic and superparamagnetic agents. *J Appl Phy* 2009; 105: 07B314, <http://dx.doi.org/10.1063/1.3072821>.

62. Azzabi F., Rottmar M., Jovaisaite V., Rudin M., Sulser T., Boss A., Eberli D. Viability, differentiation capacity, and detectability of super-paramagnetic iron oxide-labeled muscle precursor cells for MRI. *Tissue Eng Part C Methods* 2015; 21(2): 182–191, <http://dx.doi.org/10.1089/ten.TEC.2014.0110>.

63. Ward K.M., Aletras A.H., Balaban R.S. A new class of contrast agents for MRI based on proton chemical exchange dependent saturation transfer (CEST). *J Magn Reson* 2000; 143(1): 79–87, <http://dx.doi.org/10.1006/jmre.1999.1956>.

64. Aime S., Carrera C., Castelli D.D., Crich S.G., Terreno E. Tunable imaging of cells labeled with MRI-PARACEST agents. *Angew Chem Int Ed Engl* 2005; 44(12): 1813–1815, <http://dx.doi.org/10.1002/anie.200462566>.

65. Zhang S., Merritt M., Woessner D.E., Lenkinski R.E., Sherry A.D. PARACEST agents: modulating MRI contrast via water proton exchange. *Acc Chem Res* 2003; 36(10): 783–790, <http://dx.doi.org/10.1021/ar020228m>.

66. Kircher M.F., Gambhir S.S., Grimm J. Noninvasive cell-tracking methods. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8(11): 677–688, <http://dx.doi.org/10.1038/nrclinonc.2011.141>

67. Trattng S., Pinker K., Ba-Ssalamah A., Nöbauer-Huhmann I.M. The optimal use of contrast agents at high field MRI. *Eur Radiol* 2006; 16(6): 1280–1287, <http://dx.doi.org/10.1007/s00330-006-0154-0>.

68. Reagan M.R., Kaplan D.L. Concise review: Mesenchymal stem cell tumor-homing: detection methods in disease model systems. *Stem cells* 2011; 29(6): 920–927, <http://dx.doi.org/10.1002/stem.645>.

69. Guzman R., Uchida N., Bliss T.M., He D., Christopherson K., Stellwagen D., Capela A., Greve J., Malenka R.C., Moseley M.E., Palmer T.D., Steinberg G.K. Long-term monitoring of transplanted human neural stem cells in developmental and pathological contexts with MRI. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(24): 10211–10216, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0608519104>.

70. Anderson S.A., Glod J., Arbab A.S., Noel M., Ashari P., Fine H.A., Frank J.A. Noninvasive MR imaging of magnetically labeled stem cells to directly identify neovasculature in a glioma model. *Blood* 2005; 105(1): 420–425, <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2004-06-2222>.

71. Loebinger M.R., Kyrtatos P.G., Turmaine M., Price A.N., Pankhurst Q., Lythgoe M.F., Janes S.M. Magnetic resonance imaging of mesenchymal stem cells homing to pulmonary metastases using biocompatible magnetic nanoparticles. *Cancer Res* 2009; 69(23): 8862–8867, <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1912>.

72. Daadi M.M., Li Z., Arac A., Grueter B.A., Sofilos M., Malenka R.C., Wu J.C., Steinberg G.K. Molecular and magnetic resonance imaging of human embryonic stem cell-derived neural stem cell grafts in ischemic rat brain. *Mol Ther* 2009; 17(7): 1282–1291, <http://dx.doi.org/10.1038/mt.2009.104>.

73. Loebinger M.R., Janes S.M. Stem cells as vectors for antitumor therapy. *Thorax* 2010; 65(4): 362–369, <http://dx.doi.org/10.1136/thx.2009.128025>.

74. Watada Y., Yamashita D., Toyoda M., Tsuchiya K., Hida N., Tanimoto A., Ogawa K., Kanzaki S., Umezawa A. Magnetic resonance monitoring of superparamagnetic iron oxide (SPIO)-labeled stem cells transplanted into the inner ear. *Neurosci Res* 2015; 95: 21–26, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neures.2015.01.010>.

75. Geng K., Yang Z.X., Huang D., Yi M., Jia Y., Yan G., Cheng X., Wu R. Tracking of mesenchymal stem cells labeled with gadolinium diethylenetriamine pentaacetic acid by 7T magnetic resonance imaging in a model of cerebral ischemia. *Mol Med Rep* 2015; 11(2): 954–960, <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2014.2805>.

76. Cao L., Li B., Yi P., Zhang H., Dai J., Tan B., Deng Z. The interplay of T1- and T2-relaxation on T1-weighted MRI of hMSCs induced by Gd-DOTA-peptides. *Biomaterials* 2014; 35(13): 4168–4174, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.01.073>.

77. McMahon M.T., Chan K.W. Developing MR probes for molecular imaging. *Adv Cancer Res* 2014; 124: 297–327, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-411638-2.00009-4>.

78. Song X., Chan K.W., McMahon M.T. Screening of CEST MR contrast agents. *Methods Mol Biol* 2011; 771: 171–187, http://dx.doi.org/10.1007/978-1-61779-219-9_9.

79. Liang Y., Bar-Shir A., Song X., Gilad A.A., Walczak P., Bulte J.W. Label-free imaging of gelatin-containing hydrogel scaffolds. *Biomaterials* 2015; 42: 144–150, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.11.050>.

80. Shin T.H., Choi J.S., Yun S., Kim I.S., Song H.T., Kim Y., Park K.I., Cheon J. T₁ and T₂ dual-mode MRI contrast agent for enhancing accuracy by engineered nanomaterials. *ACS Nano* 2014; 8(4): 3393–3401, <http://dx.doi.org/10.1021/nn405977t>.

81. Шмидт В. Оптическая спектроскопия для химиков и биологов. М: Техносфера; 2007; 368 с. Shmidt V. *Opticheskaya spektroskopiya dlya khimikov i biologov* [Optical spectroscopy for chemists and biologists]. Moscow: Tekhnosfera; 2007; 368 p.

82. Weaner L.E., Hoerr D.C. Synthesis and application of radioisotopes in pharmaceutical research and development. In: *Fundamentals of early clinical drug development: from synthesis design to formulation*. Abdel-Magid A.F., Caron S. (editors). New York: Wiley; 2006. p. 189–214, <http://dx.doi.org/10.1002/0470043407.ch11>.

83. Mirshojaei S.F., Ahmadi A., Morales-Avila E., Ortiz-Reynoso M., Reyes-Perez H. Radiolabelled nanoparticles: novel classification of radiopharmaceuticals for molecular imaging of cancer. *J Drug Target* 2015; Jun 10: 1–11, <http://dx.doi.org/10.3109/1061186X.2015.1048516> [Epub ahead of print].

84. Hong H., Yang Y., Zhang Y., Cai W. Non-invasive cell tracking in cancer and cancer therapy. *Curr Top Med Chem*

- 2010; 10(12): 1237–1248, <http://dx.doi.org/10.2174/156802610791384234>.
- 85.** Patriarca F., Carobolante F., Zamagni E., Montefusco V., Bruno B., Englaro E., Nanni C., Geatti O., Isola M., Sperotto A., Buttignol S., Stocchi R., Corradini P., Cavo M., Fanin R. The role of positron emission tomography with 18F-fluorodeoxyglucose integrated with computed tomography in the evaluation of patients with multiple myeloma undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(6): 1068–1073, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2015.03.001>.
- 86.** Detante O., Moisan A., Dimastromatteo J., Richard M.J., Riou L., Grillon E., Barbier E., Desruet M.D., De Fraipont F., Segebarth C., Jaillard A., Hommel M., Ghezzi C., Remy C. Intravenous administration of ^{99m}Tc-HMPAO-labeled human mesenchymal stem cells after stroke: in vivo imaging and biodistribution. *Cell Transplant* 2009; 18(12): 1369–1379, <http://dx.doi.org/10.3727/096368909X474230>.
- 87.** Kraitchman D.L., Bulte J.W. In vivo imaging of stem cells and beta cells using direct cell labeling and reporter gene methods. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 1025–1030, <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.165571>.
- 88.** Tjuvajev J.G., Doubrovin M., Akhurst T., Cai S., Balatoni J., Alauddin M.M., Finn R., Bornmann W., Thaler H., Conti P.S., Blasberg R.G. Comparison of radiolabeled nucleoside probes (FIAU, FHBG, and FHPG) for PET imaging of HSV1-tk gene expression. *J Nucl Med* 2002; 43(8): 1072–1083.
- 89.** Kang K.W., Min J.J., Chen X., Gambhir S.S. Comparison of [14C]FMAU, [3H]FEAU, [14C]FIAU, and [3H]PCV for monitoring reporter gene expression of wild type and mutant herpes simplex virus type 1 thymidine kinase in cell culture. *Mol Imaging Biol* 2005; 7(4): 296–303, <http://dx.doi.org/10.1007/s11307-005-0010-7>.
- 90.** Mirpour S., Gholamrezaezhad A. Clinical stem cell imaging and in vivo tracking. In: *Stem cells in clinic and research*. Gholamrezaezhad A. (editor). InTech; 2011; p. 637–656, <http://dx.doi.org/10.5772/17821>.
- 91.** Yao J., Xia J., Wang L.V. Multiscale functional and molecular photoacoustic tomography. *Ultrason Imaging* 2015, <http://dx.doi.org/10.1177/0161734615584312> [Epub ahead of print].
- 92.** Wang L.V. Multiscale photoacoustic microscopy and computed tomography. *Nat Photonics* 2009; 3(9): 503–509, <http://dx.doi.org/10.1038/nphoton.2009.157>.
- 93.** Liu J., Tang Z., Wu Y., Wang Y. Rapid and noncontact photoacoustic tomography imaging system using an interferometer with high-speed phase modulation technique. *Rev Sci Instrum* 2015; 86(4): 044904, <http://dx.doi.org/10.1063/1.4918801>.
- 94.** Xu M.H., Wang L.V. Photoacoustic imaging in biomedicine. *Rev Sci Instrum* 2006; 77(4): 041101, <http://dx.doi.org/10.1063/1.2195024>.
- 95.** Wang L.V. Prospects of photoacoustic tomography. *Med Phys* 2008; 35(12): 5758–5767, <http://dx.doi.org/10.1118/1.3013698>.
- 96.** Li R., Phillips E., Wang P., Goergen C.J., Cheng J.-X. Label-free in vivo imaging of peripheral nerve by multispectral photoacoustic tomography. *J Biophoton* 2015, <http://dx.doi.org/10.1002/jbio.201500004>.
- 97.** Maslov K., Zhang H.F., Hu S., Wang L.V. Optical-resolution photoacoustic microscopy for in vivo imaging of single capillaries. *Opt Lett* 2008; 33(9): 929–931, <http://dx.doi.org/10.1364/OL.33.000929>.
- 98.** Wang L., Maslov K., Wang L.V. Single-cell label-free photoacoustic flowography in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(15): 5759–5764, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1215578110>.
- 99.** Zhang Y., Cai X., Wang Y., Zhang C., Li L., Choi S.-W., Wang L.V., Xia Y. Noninvasive photoacoustic microscopy of living cells in two and three dimensions through enhancement by a metabolite dye. *Angew Chem Int Ed Engl* 2011; 50(32): 7359–7363, <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201101659>.
- 100.** Sakadžić S., Lee J., Boas D.A., Ayata C. High-resolution in vivo optical imaging of stroke injury and repair. *Brain Res* 2015; 1623: 174–172, <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2015.04.044>.
- 101.** Wu D., Huang L., Jiang M.S., Jiang H. Contrast agents for photoacoustic and thermoacoustic imaging: a review. *Int J Mol Sci* 2014; 5(12): 23616–23639, <http://dx.doi.org/10.3390/ijms151223616>.
- 102.** Ricles L.M., Nam S.Y., Trevico E.A., Emelianov S.Y., Suggs L.J. A dual gold nanoparticle system for mesenchymal stem cell tracking. *J Mater Chem B Mater Biol Med* 2014; 2(46): 8220–8230, <http://dx.doi.org/10.1039/C4TB00975D>.
- 103.** Nam S.Y., Chung E., Suggs L.J., Emelianov S.Y. Combined ultrasound and photoacoustic imaging to noninvasively assess burn injury and selectively monitor a regenerative tissue-engineered construct. *Tissue Eng Part C Methods* 2015; 21(6): 557–566, <http://dx.doi.org/10.1089/ten.TEC.2014.0306>.
- 104.** Zharov V.P., Galanzha E.I., Shashkov E.V., Kim J.W., Khlebtsov N.G., Tuchin V.V. Photoacoustic flow cytometry: principle and application for real-time detection of circulating single nanoparticles, pathogens, and contrast dyes in vivo. *J Biomed Opt* 2007; 12(5): 051503, <http://dx.doi.org/10.1117/1.2793746>.
- 105.** Galanzha E.I., Zharov V.P. Circulating tumor cell detection and capture by photoacoustic flow cytometry in vivo and ex vivo. *Cancers (Basel)* 2013; 5(4): 1691–1738, <http://dx.doi.org/10.3390/cancers5041691>.
- 106.** Cao F., Drukker M., Lin S., Sheikh A.Y., Xie X., Li Z., Connolly A.J., Weissman I.L., Wu J.C. Molecular imaging of embryonic stem cell misbehavior and suicide gene ablation. *Cloning Stem Cells* 2007; 9(1): 107–117, <http://dx.doi.org/10.1089/clo.2006.0e16>.
- 107.** Waerzeggers Y., Klein M., Miletic H., Himmelreich U., Li H., Monfared P., Herrlinger U., Hoehn M., Coenen H.H., Weller M., Winkler A., Jacobs A.H. Multimodal imaging of neural progenitor cell fate in rodents. *Mol Imaging Biol* 2008; 7(2): 77–91.
- 108.** Gaedicke S., Braun F., Prasad S., Machein M., Firat E., Hettich M., Gudihal R., Zhu X., Klingner K., Schüler J., Herold-Mende C.C., Grosu A.L., Behe M., Weber W., Mäcke H., Niedermann G. Noninvasive positron emission tomography and fluorescence imaging of CD133+ tumor stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(6): 692–701, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1314189111>.
- 109.** Hung T.C., Suzuki Y., Urashima T., Caffarelli A., Hoyt G., Sheikh A.Y., Yeung A.C., Weissman I., Robbins R.C., Bulte J.W., Yang P.C. Multimodality evaluation of the viability of stem cells delivered into different zones of myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Imaging* 2008; 1(1): 6–13, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCIMAGING.108.767343>.
- 110.** De Vocht N., Reekmans K., Bergwerf I., Praet J., Hoornaert C., Le Blon D., Daans J., Berneman Z., Van der Linden A., Ponsaerts P. Multimodal imaging of stem cell implantation in the central nervous system of mice. *J Vis Exp* 2012; (64): e3906, <http://dx.doi.org/10.3791/3906>.
- 111.** Cussó L., Mirones I., Peña-Zalbidea S., García-Vázquez V., García-Castro J., Desco M. Combination of single-photon emission computed tomography and magnetic resonance imaging to track ¹¹¹In-oxine-labeled human mesenchymal stem cells in neuroblastoma-bearing mice. *Mol Imaging* 2014; 13: 1–10.
- 112.** Jackson J., Chapon C., Jones W., Hirani E., Qassim A., Bhakoo K. In vivo multimodal imaging of stem cell transplantation in a rodent model of Parkinson's disease. *J Neurosci*

Methods 2009; 183(2): 141–148, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2009.06.022>.

113. Wang H., Cao F., De A., Cao Y., Contag C., Gambhir S.S., Wu J.C., Chen X. Trafficking mesenchymal stem cell engraftment and differentiation in tumor-bearing mice by bioluminescence imaging. *Stem Cells* 2009; 27(7): 1548–1558, <http://dx.doi.org/10.1002/stem.81>.

114. Meleshina A.V., Cherkasova E.I., Shirmanova M.V., Klementieva N.V., Kiseleva E.V., Snopova L.B., Prodanets N.N.,

Zagaynova E.V. Influence of mesenchymal stem cells on the metastases development in mice in vivo. *Stem Cell Res Ther* 2015; 6: 15, <http://dx.doi.org/10.1186/s13287-015-0003-7>.

115. Повещенко А.Ф., Повещенко О.В., Коненков В.И. Современные достижения в создании методов изучения миграции стволовых клеток. Вестник РАМН 2013; 9: 46–51. Poveshchenko A.F., Poveshchenko O.V., Konenkov V.I. Recent advances in the study of the stem cells migration methods. *Vestnik RAMN* 2013; 9: 46–51.