

文章编号: 1672-8785(2025)11-0036-28

近红外荧光探针在缺血再灌注损伤生物成像诊断中的应用

刘 明¹ 马哲骋¹ 刘 恒^{2,3*} 田志远^{1*}

(1. 中国科学院大学化学科学学院, 北京 101408;

2. 国家卫生健康委员会热带病防治重点实验室, 海南 海口 571199;

3. 海南医科大学生命科学与医学技术学院, 海南 海口 571199)

摘 要: 缺血再灌注损伤 (Ischemia-Reperfusion Injury, IRI) 是心肌梗死、脑卒中、器官移植等多种临床危重症共同的病理生理基础。实现 IRI 的早期诊断与实时动态监测对于揭示其发病机制、评估组织活性、改善患者预后具有至关重要的意义。近红外荧光成像在通过可视化方式研究 IRI 方面展现出广泛的应用前景。该技术的核心在于近红外荧光探针, 其设计策略与性能直接决定了成像的特异性、灵敏度和评估能力。本综述旨在系统梳理并评述近红外荧光探针在 IRI 成像诊断应用中的最新研究进展, 概述了 IRI 的病理生理机制以及可作为探针设计依据的关键生物标志物, 并按照其响应特性和靶向性对探针进行了分类。在此基础上, 按照探针在心脏、脑、肺、肝脏、肾脏以及肢体等重要器官 IRI 模型中的应用实例进行了归纳和论述, 并剖析了其设计关键所在与成像性能。我们还探讨了该领域当前面临的核心挑战并展望了未来发展方向。

关键词: 缺血再灌注损伤; 近红外荧光成像; 荧光探针; 生物标志物; 特异性; 靶向性

中图分类号: O657.3 文献标志码: A DOI: 10.11972/j.issn.1672-8785.2025.11.005

Near-Infrared Fluorescent Probes for Biological Imaging Applications in the Diagnosis of Ischemia-Reperfusion Injury

LIU Ming¹, MA Zhe-cheng¹, LIU Heng^{2,3*}, TIAN Zhi-yuan^{1*}

(1. School of Chemical Science, University of Chinese Academy of Science, Beijing 101408, China;

2. NHC Key Laboratory of Tropical Disease Control, Haikou 571199, China;

3. School of Life Sciences and Medical Technology, Hainan Medical University, Haikou 571199, China)

收稿日期: 2025-11-20

基金项目(Foundation Items): 国家自然科学基金项目(22277120; 22407124; 22461020); 海南医科大学学术提升支持计划项目(XSTS2025059)

作者简介(Biography): 刘明(1992-), 男, 山东聊城人, 特别研究助理, 主要研究方向为小分子荧光探针及生物医疗应用。

*通讯作者(Corresponding Authors): liuheng11b@muhn.edu.cn(刘恒); zytian@ucas.ac.cn(田志远)

Abstract: Ischemia-reperfusion injury (IRI) in different organs is a common pathophysiological basis in a variety of clinical critical diseases, such as myocardial infarction, cerebral stroke, and organ transplantation. The early diagnosis and real-time monitoring of IRI is unequivocally of great significance in revealing the underlying pathogenesis, evaluating tissue activity, and improving prognosis. Near-infrared (NIR) fluorescence imaging technology has displayed great potential in investigating IRI via the manner of in vivo real-time visualization. As the cornerstone involved in such a technology, fluorescent probes play a crucial role therein, and their design strategy and performance dominantly determine the imaging specificity, sensitivity, and evaluation ability. This minireview aims to outline recent advances in research dedicated to the diagnostic applications of NIR fluorescent probes via IRI imaging, with a focus on the pathophysiological mechanism of IRI and the key biomarkers that generally act as the basis of probe design. Additionally, we classify and summarize the imaging applications of fluorescent probes according to their involvement in various IRI models of important organs, including heart, brain, lung, liver, kidney, and limbs, and give an insight into the key to design rationale and imaging performance of the probes. Finally, we present a viewpoint towards the key challenges in NIR fluorescence imaging for mapping IRI and the future research regarding developing more versatile and more efficient NIR fluorescent probes for IRI clinical imaging applications.

Key words: ischemia-reperfusion injury; near-infrared fluorescence imaging; fluorescent probe; biomarker; specificity; targeting

0 引言

缺血再灌注损伤(Ischemia-Reperfusion Injury, IRI)是一种复杂的病理过程,指组织或器官在因血流中断导致缺氧及代谢物质供应不足后,即使恢复了血液再通,细胞功能非但未能恢复正常,反而出现更为严重的结构损害和生理功能紊乱^[1]。作为多种临床疾病中共有的关键病理机制,IRI涉及多个层次、多条信号通路协同参与的生物学级联反应,常见于心肌梗死、脑卒中、器官移植、休克后的复苏以及外周血管手术等多种医学场景^[1-2]。虽然重新建立血流灌注是挽救缺血组织不可或缺的治疗措施,但再灌注过程本身可能触发或加重细胞与组织的损伤,呈现出典型的“双重打击”特征^[3]。这一病理过程通常分为两个相继发生但机制不同的阶段——缺血期和再灌注期,两者在能量代谢调控、离子平衡维持、氧化应激反应以及细胞内信号传导等方面表现出明显差异,共同促进组织损伤的进一步发展。

近年来,随着分子影像技术的迅速进步,近红外(Near-Infrared, NIR)荧光成像凭借其独特优势在 IRI 研究中展现出广阔的应用前景。相较于传统成像方法,该技术具备高时空分辨率、可实现活体实时动态监测以及非侵入性等

显著特点^[4]。尤其是近红外一区(NIR-I, 650~900 nm)和近红外二区(NIR-II, 1000~1700 nm)的荧光成像,由于在此波长范围内荧光信号的组织穿透能力更强且生物组织的自发荧光干扰较小、光散射程度低,因而为活体深层组织的高清晰度成像提供了可行的技术路径^[5]。作为该成像技术的关键核心,荧光探针的性能直接影响成像的灵敏度与准确性。因此,设计并构建能够靶向识别 IRI 相关特异性生物标志物的高效 NIR 荧光探针,对于促进 IRI 的早期检测、病理机制解析以及治疗效果评估具有重要意义。

本综述以 IRI 的基本病理机制为基础,系统总结了 NIR 荧光探针在该领域成像应用的研究进展。首先,全面解析了 IRI 进程中关键的病理生理变化及其相关的特异性生物标志物(见图 1),为探针的合理设计提供依据。在此基础上,将 NIR 荧光探针划分为非响应型与响应型两大类,并从分子设计思路、信号响应机制和实际成像效能等多个维度进行了深入分析与比较。最后,结合当前研究中存在的瓶颈问题,对未来的技术优化方向和潜在应用前景提出了具有前瞻性的思考与建议,旨在为 IRI 相关探针开发及影像研究提供有益参考。

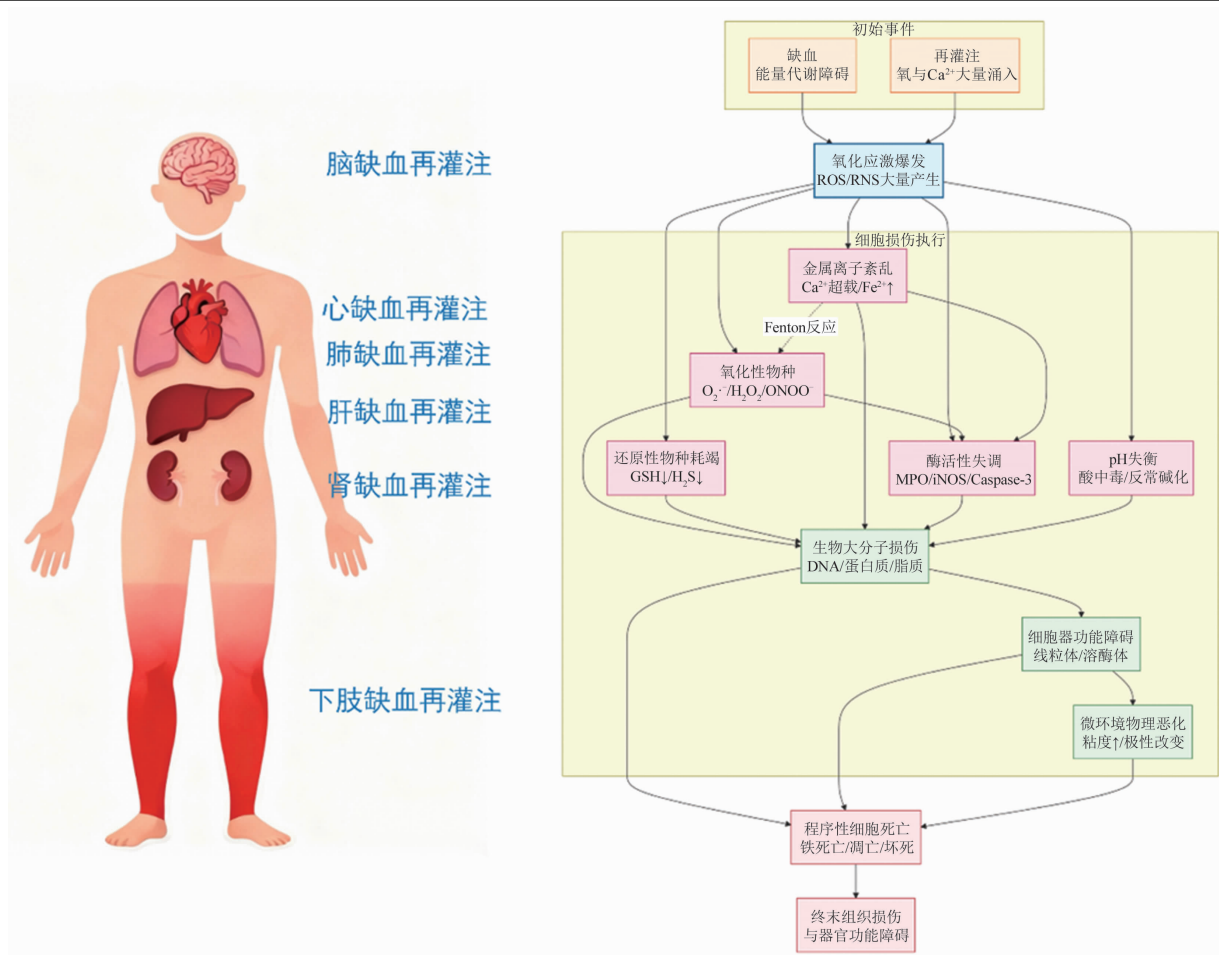


图 1 IRI 的种类及其病理进展展示

1 IRI 病理进展分析

1.1 缺血期病理生理变化

此过程伴随大量乳酸产生与积累, 引发细胞内环境酸化, 导致 pH 值降低, 进而诱发代谢性酸中毒^[6]。这种酸性条件不仅抑制多种关键酶的活性, 还可能干扰离子通道的正常功能, 加剧细胞稳态失衡。此外, 随着 ATP 水平持续下降, 依赖其供能的 Na^+/K^+ -ATP 酶活性受到严重抑制, 致使细胞膜电位紊乱, 钠离子(Na^+)在胞内异常积聚。由此产生的渗透压变化驱动水分大量进入细胞, 引起细胞肿胀, 最终可能导致细胞结构破裂, 即典型的“细胞水肿”现象^[7]。同时, 在跨膜 Na^+ 浓度梯度减弱的情况下, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换体(NCX)由正常的外排钙模式转变为反向运行, 促使钙离子(Ca^{2+})非正常内流, 成为细胞内钙超载的早期诱因^[8]; 尽管该过程在缺血初期表现较为温

和, 却为再灌注阶段更为剧烈的钙稳态失调埋下伏笔。在亚细胞层面, 线粒体功能亦遭受显著损害^[9]。电子传递链(ETC)活性降低导致线粒体膜电位($\Delta\Psi\text{m}$)逐步去极化, 进一步削弱 ATP 再生潜力, 并提高线粒体通透性转换孔(mPTP)开放的可能性^[10]。此外, 由于能量供应不足, 细胞骨架蛋白失去稳定支持, 微管和微丝网络发生解聚, 细胞形态维持能力下降, 细胞膜完整性受损, 从而加速向不可逆损伤的进展。

1.2 再灌注期病理生理变化

尽管再灌注的初衷是恢复组织的氧气供应与代谢稳态, 但这一过程本身却会诱发一系列更为剧烈的继发性损伤。这种现象被称为“再灌注悖论”^[11]。其中, 活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)的急剧爆发被认为是 IRI 的关键驱动因素之一^[10]。ROS 的主要来源包括: 在

恢复供氧初期, 线粒体电子传递链因电子传递异常而发生泄漏; 黄嘌呤脱氢酶转化为黄嘌呤氧化酶后, 在催化尿酸生成过程中产生大量超氧阴离子($O_2^{\bullet-}$); NADPH 氧化酶(NOX)家族被激活后持续产生活性自由基^[12]。这些高反应性组分迅速积聚, 超出细胞内源性抗氧化防御系统(如超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶等)的清除能力, 从而引发严重的氧化应激状态。过量的 ROS 可广泛攻击脂质、蛋白质和 DNA 等生物大分子, 导致细胞膜特别是线粒体膜发生脂质过氧化, 引起蛋白质结构功能异常, 并造成 DNA 链断裂, 严重损害细胞的完整性与生理功能^[13]。

更为关键的是, ROS 还可作为重要的信号介质, 激活多种促炎和促凋亡信号通路^[14]。例如, 其可通过氧化修饰 I κ B 蛋白, 使其降解并释放核因子 κ B(NF- κ B), 促使后者转入细胞核, 启动 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等多种炎症因子的基因表达, 进而触发局部炎症反应^[15]。同时, 受损的血管内皮细胞上调表达 ICAM-1、VCAM-1 及选择素等黏附分子, 促进中性粒细胞的黏附、迁移和组织浸润, 释放蛋白酶及额外的 ROS, 形成自我放大的正反馈环路, 进一步扩大组织损伤范围^[16-17]。

此外, 再灌注期间钙离子稳态的失衡也显著加重了细胞损伤。ROS 引起的细胞膜和线粒体膜脂质过氧化破坏了膜的完整性, 导致电压门控钙通道、受体操纵性钙通道以及储存操纵性钙通道异常开放, 促使细胞外 Ca^{2+} 大量内流^[18]; 与此同时, 内质网中的钙库因鱼尼丁受体(RyRs)和三磷酸肌醇受体(IP3Rs)敏感性增强而过度释放 Ca^{2+} , 使胞浆内钙浓度急剧升高^[19]。高水平的 Ca^{2+} 进一步激活 calpain 等钙依赖性蛋白酶、磷脂酶 A_2 以及核酸内切酶, 引发细胞骨架崩解、膜结构破裂和染色质断裂, 最终推动细胞走向程序性或坏死性死亡。

微循环功能障碍是再灌注损伤中不可忽视的关键特征之一。尽管大血管血流得以重建,

但由于内皮细胞受损、微血栓形成以及白细胞黏附阻塞微血管腔, 部分组织区域仍难以实现有效血液灌注, 临床上将这一现象称为“无复流”(no-reflow)^[20-21]。该现象严重削弱了再灌注治疗的实际疗效, 并显著影响患者的临床预后。

在细胞死亡机制方面, IRI 涉及多种程序性死亡途径的共同参与。除了传统的凋亡和坏死之外, 近年来研究发现焦亡(pyroptosis)——一种由 caspase-1/4/5/11 激活介导、伴随大量促炎因子释放并导致细胞破裂的死亡方式——在机体固有免疫应答中发挥重要作用^[22]。尤其值得关注的是, 铁死亡(ferroptosis)作为一种新近被广泛认知的调控性细胞死亡形式, 因其依赖铁离子催化且以脂质过氧化物异常累积为核心特征, 在心、脑、肝、肾等多个器官的 IRI 模型中均被证实具有关键调控作用^[23]。铁死亡的发生主要与谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)活性降低、胱氨酸/谷氨酸逆向转运系统(System Xc-)功能受抑以及多不饱和脂肪酸的过度氧化密切相关, 目前已成为干预 IRI 病理进程的重要潜在靶点^[24]。

1.3 关键生物标志物体系

上述复杂的病理生理过程伴随着一系列动态变化的生物分子事件, 产生了丰富的可用于检测与成像的生物标志物。这些标志物涵盖多个维度, 包括但不限于: 活性氧类($O_2^{\bullet-}$ 、 H_2O_2 、ONOO $^-$ 、HClO、HOBr、 $\bullet$ OH)^[25]、含硫信号分子(GSH、Cys、Hcy、 H_2S 、 H_2S_n)^[26]、气体信号分子(NO、CO、 SO_2)^[27-29]、金属离子(Fe^{2+} 、 Ca^{2+})、pH 值^[30]、粘度^[31]以及氧化还原状态相关指标。

基于这些分子特征设计的高选择性、高灵敏度荧光探针, 不仅能够实现在体或离体条件下对 IRI 进程的实时监测, 也为机制解析、疗效评估以及新药开发提供了强有力的依据和技术支撑。值得注意的是, 不同器官的 IRI 具有其特殊的生物标志物表达谱。例如, 心肌 IRI 中线粒体 ROS 的产生尤为显

著^[32], 脑 IRI 中兴奋性氨基酸和神经递质的变化较为突出^[33], 而肝 IRI 中细胞色素 P450 系统的紊乱则具有特征性^[34]。这种器官特异性为开发靶向性探针提供了重要依据。

2 IRI 的诊断手段与技术

由于 IRI 对组织损害的进展及患者临床预后具有重大影响, 实现其早期发现与精准干预在临床上显得尤为重要。然而, 当前常用的影像学技术, 如计算机断层扫描(CT)和磁共振成像(MRI), 主要依赖解剖结构的改变进行判断, 对于 IRI 初期尚未出现明显形态学异常的分子层面变化——例如氧化应激的启动、炎症因子的释放或细胞膜电位的波动——往往缺乏足够的敏感性和特异性。同时, 受限于时间分辨率, 这些方法难以实现连续、动态的监测过程^[35]。另一方面, 尽管组织活检可在一定程度上提供病理证据, 但其侵入性操作可能会加剧局部组织损伤, 且受取样部位限制和组织异质性的影响, 难以全面、准确地反映病变的整体动态^[36]。因此, 开发具备高时空分辨率、非侵入性特点, 并能实时追踪关键生物标志物动态演变的在体检测手段, 已成为推动 IRI 基础研究向临床转化的核心需求。

近年来, 光学分子成像技术为应对上述挑战提供了有力的技术支持^[37]。该技术具备多项显著优势: (1)具有极高的检测灵敏度和良好的实时性能, 能够捕捉微环境中目标组分的微量变化, 实现生理与病理过程的动态可视化。(2)空间分辨率优异, 可精确靶向特定亚细胞结构(如线粒体、溶酶体、高尔基体)进行定位成像。(3)无创检测方式: 适用于活细胞、离体组织以及活体动物模型的长时间示踪。(4)探针设计灵活多样: 通过合理的分子结构调控, 可针对特定生物标志物(如活性氧/硫物种、金属离子、酶类、气体信号分子等)构建高选择性响应体系, 显著提升检测的靶向性与准确性。

NIR-I 和 NIR-II 窗口的荧光成像技术因其优异的光学特性而备受关注。该波段的光在生

物组织中表现出较低的散射程度和较强的穿透能力, 可实现毫米级甚至厘米级的深层组织成像。同时, 由于生物体在该区域的自发荧光干扰显著降低, 背景信号被有效抑制, 从而显著提高了图像的信噪比与分辨率。这些优势为在活体条件下动态、清晰地可视化 IRI 相关的病理过程提供了重要的技术保障^[38]。

在此背景下, NIR 荧光探针作为连接分子事件与光学信号的核心媒介, 其设计策略与性能表现直接决定了成像的灵敏度、选择性和定量能力。一个理想 IRI 成像探针应具备以下特性: (1)高的摩尔消光系数和荧光量子产率; (2)良好的光稳定性和化学稳定性; (3)合适的生物分布和代谢特性; (4)对目标生物标志物的高选择性和灵敏度; (5)良好的生物相容性和低毒性。当前研究正朝着多功能化、智能化、临床转化等方向发展。

3 用于 IRI 成像和诊断的 NIR 荧光探针的分类

依据 NIR 荧光探针对病理微环境刺激的响应机制、作用模式和信号输出特点, 可将其系统划分为非响应性探针与响应性探针两大类型。二者在分子设计思路、体内分布行为、成像功能导向以及临床转化潜力等方面各具特征, 差异显著。然而, 在 IRI 的研究与监测中, 两类探针各展所长, 相互补充, 共同构建了实现病变过程动态可视化的重要技术体系。

3.1 非响应性荧光探针

此类探针在体内的代谢过程不依赖于特定的生化反应或病理因子激活, 其光学特性(如激发与发射波长、荧光强度、量子产率及光稳定性)在多种生理和病理环境中均表现出良好的稳定性, 因此被归为“结构导向型”或“被动靶向型”成像剂。其主要功能在于呈现组织层面的宏观解剖结构与生理状态变化, 而非捕捉分子层级的动态生物学事件。典型应用场景包括评估血流灌注情况、微血管通透性的改变、淋巴系统的引流能力以及细胞外间隙的扩

张程度等。

通常情况下, 这类探针通过静脉注射进入体内后随血液循环分布至各组织, 并利用病变区域特有的血管结构特征实现局部聚集。这一过程主要依赖于增强渗透与滞留效应(Enhanced Permeability and Retention effect, EPR effect)^[39]。在 IRI 进程中, 缺血阶段因能量缺乏和氧化应激导致内皮细胞损伤, 连接蛋白(如 VE-cadherin 及紧密连接相关蛋白)发生降解; 再灌注后, 炎症反应进一步加剧, 大量释放 TNF- α 、IL-1 β 等促炎因子, 加重血管内皮屏障的破坏, 显著增加毛细血管的通透性^[40]。与此同时, 受损区域淋巴回流功能受限, 形成“高渗出、低清除”的微环境状态, 使得纳米级探针或大分子荧光标记物易于从结构异常的血管壁渗出, 并在病灶部位长期蓄积, 从而在成像中呈现出明显高于正常组织的信号对比度。

为提高成像的空间分辨率与靶向精确度, 部分非响应性探针可通过化学修饰共价连接特定靶向配体, 从而转变为“主动靶向型”探针, 实现对损伤区域的特异性识别。常用的靶向分子包括单克隆抗体(如抗 ICAM-1、抗 VCAM-1、抗 P-selectin 抗体), 可选择性结合在活化内皮细胞表面显著上调的黏附分子^[41]; 功能性肽段如环状精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(cRGD)肽, 能够靶向在炎症反应和组织修复过程中高表达的整合素 $\alpha_v\beta_3$ 受体^[42]; 此外, 小分子配体如叶酸, 可用于识别某些损伤相关巨噬细胞表面过表达的叶酸受体^[43]。通过上述配体介导的主动靶向机制, 不仅显著增强了探针在病变部位的选择性富集能力, 延长其在目标区域的滞留时间, 同时大幅提升了成像信号的对比度与生物特异性。因此, 这类探针在描绘 IRI 病灶的空间分布、清晰界定病变边界及其与正常组织交界区方面表现出优越性能, 在术中实时导航、缺血范围评估以及治疗效果动态监测等临床应用场景中展现出广阔的应用前景。

3.2 响应性荧光探针

响应性荧光探针是基于分子工程与化学生物学原理构建的一类功能性成像剂, 其核心特征在于能够对特定病理微环境中的生物化学或物理参数变化产生选择性响应, 并将该刺激转化为可检测的光学信号输出。这类探针通常包含三个关键组成部分——识别单元(recognition moiety)、连接桥(linker/spacer)和荧光报告基团(fluorophore), 通过精巧的设计实现“信号静默—激活释放”或“波长调控—比率输出”的响应模式。

在 IRI 的复杂病理进程中, 响应性探针可针对多种关键生物标志物进行特异性识别, 主要包括:

(1) 氧化性物种: 在 IRI 进程中, 氧化性组分的异常蓄积是导致组织受损的核心病理机制之一。这类物质主要包括活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)和活性氮物种(Reactive Nitrogen Species, RNS)。ROS 主要来源于线粒体电子传递链的电子泄漏、黄嘌呤氧化酶的活化以及 NADPH 氧化酶(NOX)的上调表达。其中, $O_2^{\cdot-}$ 可与一氧化氮(NO)迅速结合生成具有高度细胞毒性的过氧亚硝酸根($ONOO^-$); 而 H_2O_2 在二价铁离子(Fe^{2+})的催化下通过 Fenton 反应转化为极具破坏力的 $\cdot OH$, 进而引发 DNA 断裂、蛋白质氧化修饰以及脂质过氧化等损伤。RNS 则以 NO、二氧化氮(NO_2)和 $ONOO^-$ 为主要代表, 尤其是 $ONOO^-$, 能够诱导蛋白质酪氨酸残基发生硝化修饰, 干扰线粒体正常功能, 并促进细胞死亡途径的激活。此外, 在自由基攻击下, 多不饱和脂肪酸发生连锁性的脂质过氧化反应, 产生丙二醛(MDA)和 4-羟基壬烯醛(4-HNE)等具有细胞毒性的次级代谢产物。这些物质不仅破坏细胞膜结构的完整性, 还可作为信号分子激活炎症反应与程序性细胞死亡通路。由此可见, 氧化性物种不仅直接攻击核酸、蛋白质和脂质等关键生物大分子, 还在细胞信号转导中发挥调控作用, 深度参与 IRI 的发展进

程。因此,对其动态变化进行系统监测,对于深入理解疾病机制和开发针对性干预策略具有重要价值。

(2)还原性物种:还原性物质在维持细胞氧化还原平衡中发挥关键作用。主要内源性还原性分子包括还原型谷胱甘肽(GSH)、硫氧还蛋白(Trx)、硫化氢(H_2S)及多硫化物(H_2S_n)、半胱氨酸(Cys)、同型半胱氨酸(Hcy)和抗坏血酸等,可通过直接清除自由基、参与抗氧化酶反应或调控信号转导通路等方式发挥细胞保护效应。在 IRI 过程中,伴随线粒体功能障碍与代谢紊乱,细胞内还原环境遭到破坏,表现为 GSH/GSSG 比值降低、Trx 系统活性下降以及 H_2S 合成相关酶(如 CBS、CSE)表达减少,整体抗氧化能力显著减弱。这种还原力的衰退不仅削弱了对 ROS 的清除效率,还可能加剧脂质过氧化、蛋白质损伤和 DNA 氧化,进而促进铁死亡、凋亡等程序性死亡途径的启动。因此,还原性物种不仅是维持氧化还原平衡的核心成分,亦可作为评估 IRI 严重程度的重要生物标志物。

(3) pH 值变化:组织 pH 的动态波动是反映代谢紊乱的重要生理指标。在缺血早期,由于氧化磷酸化障碍,细胞转而依赖无氧糖酵解,产生大量乳酸,同时 ATP 水解释放 H^+ ,导致细胞内出现酸中毒(intracellular acidosis)。为应对这一变化, Na^+/H^+ 交换体(NHE1)被激活以排出质子,但因细胞外缓冲能力减弱,形成“胞内酸性、胞外相对偏碱”的异常 pH 分布格局。在再灌注阶段,随着血液循环恢复,细胞外 H^+ 被迅速清除,而 NHE1 仍持续活跃,引发胞内反常性碱化(intracellular alkalization),造成跨膜 pH 梯度倒置,进而促进 Ca^{2+} 内流和钙超载。此外,碱性环境可增加线粒体通透性转换孔(mPTP)的开放概率,并加速脂质过氧化进程,从而推动铁死亡等程序性细胞死亡途径的发展。不同器官中 pH 变化模式各异,心

肌组织中的 pH 波动与心律失常密切相关,而在脑组织中则可抑制神经元电活动。由此可见, pH 不仅作为代谢状态的指示信号,更直接参与调控多种关键损伤机制。得益于 NIR 荧光探针的技术进步,基于分子内电荷转移(ICT)或激发态分子内质子转移(ESIPT)机制构建的 pH 响应型探针,已实现活体内 pH 变化的高分辨率比率成像,为 IRI 的动态监测及干预策略评估提供了有效的技术手段。

(4)金属离子浓度波动:细胞内金属离子浓度的异常波动在氧化应激及细胞死亡进程中发挥关键驱动作用,其中钙离子(Ca^{2+})与铁离子($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$)的失调尤为显著。缺血初期,由于 ATP 合成减少,依赖能量的 Ca^{2+} -ATP 酶活性下降,导致胞质中 Ca^{2+} 无法有效被泵出细胞或储存至内质网,引起细胞内 Ca^{2+} 逐步积聚。在再灌注阶段,大量活性氧(ROS)生成进一步损伤细胞膜和线粒体膜结构,促使电压门控、受体调控及储存操纵型钙通道异常开启,造成 Ca^{2+} 急剧内流,形成钙超载。持续升高的 Ca^{2+} 水平可激活钙蛋白酶、磷脂酶 A_2 和核酸内切酶等下游效应分子,引发细胞骨架崩解、膜系统破坏以及 DNA 断裂,最终推动细胞发生坏死或凋亡。与此同时,游离亚铁离子(Fe^{2+})的增多可通过 Fenton 反应催化 H_2O_2 转化为高活性的羟基自由基($\cdot\text{OH}$),显著加剧脂质过氧化并触发铁死亡。在 IRI 过程中,铁代谢紊乱表现为铁蛋白降解加快、转铁蛋白受体表达上调以及铁输出蛋白(ferroportin)水平降低,共同导致胞内游离铁池扩张。此外,锌离子(Zn^{2+})和铜离子($\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$)亦参与调节氧化还原状态和多种酶的功能,在特定条件下可能协同增强氧化损伤效应。由此可见,金属离子不仅是重要的细胞信号传导介质,更作为氧化损伤与程序性死亡通路的核心枢纽,在缺血再灌注损伤中扮演多重病理角色,因而成为亟需动态监测与靶向干预的关键分子靶点。

(5)酶活性变化:在 IRI 过程中,多种关键酶的活性发生显著且动态的改变,深度参与炎症反应、氧化应激和细胞死亡等核心病理机制。再灌注期间,中性粒细胞与巨噬细胞浸润受损组织,释放髓过氧化物酶(Myeloperoxidase, MPO),利用 H_2O_2 与氯离子催化生成高活性的次氯酸(HClO),从而加剧蛋白质氧化修饰和脂质过氧化损伤。与此同时,线粒体功能障碍促使细胞色素 c 释放入胞质,激活 caspase 级联反应,其中 caspase-3 作为关键执行酶,负责介导 DNA 断裂及凋亡程序的最终实施。此外,溶酶体膜稳定性下降导致组织蛋白酶 B 和 L (cathepsin B/L) 外泄,在局部酸性环境中促进线粒体外膜通透化,进一步放大细胞损伤信号。另一方面,诱导型一氧化氮合酶(iNOS)在炎症因子刺激下大量表达,持续产生 NO,后者与超氧阴离子($\text{O}_2^{\bullet-}$)快速结合生成强氧化性的过氧亚硝酸根(ONOO^-),引发广泛的蛋白质硝化修饰并干扰能量代谢,导致细胞功能衰竭。这些酶的活性变化不仅直观反映了组织损伤的进展程度,还具有高度的病理特异性,因而可作为潜在的生物标志物,为 IRI 的实时监测、病情评估及治疗效果判断提供重要依据。

(6)微环境物理参数:粘度、极性和机械张力等物理微环境参数在 IRI 中具有重要影响。缺血引发能量代谢障碍,导致 ATP 大量消耗,线粒体结构受损,进而引起细胞骨架重排和胞质流动减缓,造成局部微环境粘度上升。高粘度状态会限制分子的自由扩散,削弱细胞内的信号传递效率,并促进错误折叠蛋白的聚集与沉积。同时,细胞膜脂质双层流动性下降以及膜相变的发生,使膜结构趋于僵化,干扰膜相关蛋白的正常功能。在极性层面,由于脂质过氧化反应加剧和膜完整性的破坏,细胞膜内外的介电性质发生紊乱,影响跨膜电位的维持以及离子通道的调控活性。在再灌注阶段,伴随炎症反应的增

强,组织出现水肿,间质压力升高,产生异常的机械应力,可激活 Piezo1/2 等机械敏感性离子通道,诱导 Ca^{2+} 内流,进而触发钙超载及相关炎症信号级联。近年来,基于分子转子或荧光共振能量转移(FRET)机制构建的近红外(NIR)荧光探针已实现对活体内微环境粘度、极性和力学特性的实时、动态成像监测^[44-45]。这些物理参数的可视化不仅有助于深入理解 IRI 过程中非化学性微环境紊乱的病理作用,也为发展靶向调控物理微环境的新型治疗策略提供了理论依据与技术支撑。

综上所述,非响应性探针侧重于提供解剖与生理层面的信息,适用于早期血流动力学评估与结构定位;而响应性探针则聚焦于揭示分子水平的病理事件,能够实现对氧化应激、钙稳态失衡、炎症激活及程序性细胞死亡等关键过程的原位、实时、动态监测。NIR 荧光探针的发展正逐步推动 IRI 从“形态观察”向“功能解析”乃至“机制揭示”的范式转变。本综述将围绕上述分类体系,系统梳理近年来该领域在探针设计原理、生物相容性优化、多模态整合策略及其在动物模型中应用于心肌、脑、肝、肾等重要器官 IRI 监测的研究进展,并探讨当前面临的挑战,如长期毒性评估、临床转化路径、标准化成像协议建立等问题,以期对未来高性能探针的研发及其实现精准医学应用提供理论依据与方向指引。

4 非响应性 NIR 荧光探针在 IRI 成像中的应用

非响应性探针本身荧光信号稳定,其在损伤区域的富集主要依赖于物理分布或特异性结合。

4.1 非靶向性探针

此类探针通常是小分子染料或纳米颗粒,它们利用 IRI 区域特有的 EPR 效应进行富集。IRI 可引起微血管内皮间隙增宽、血管通透性

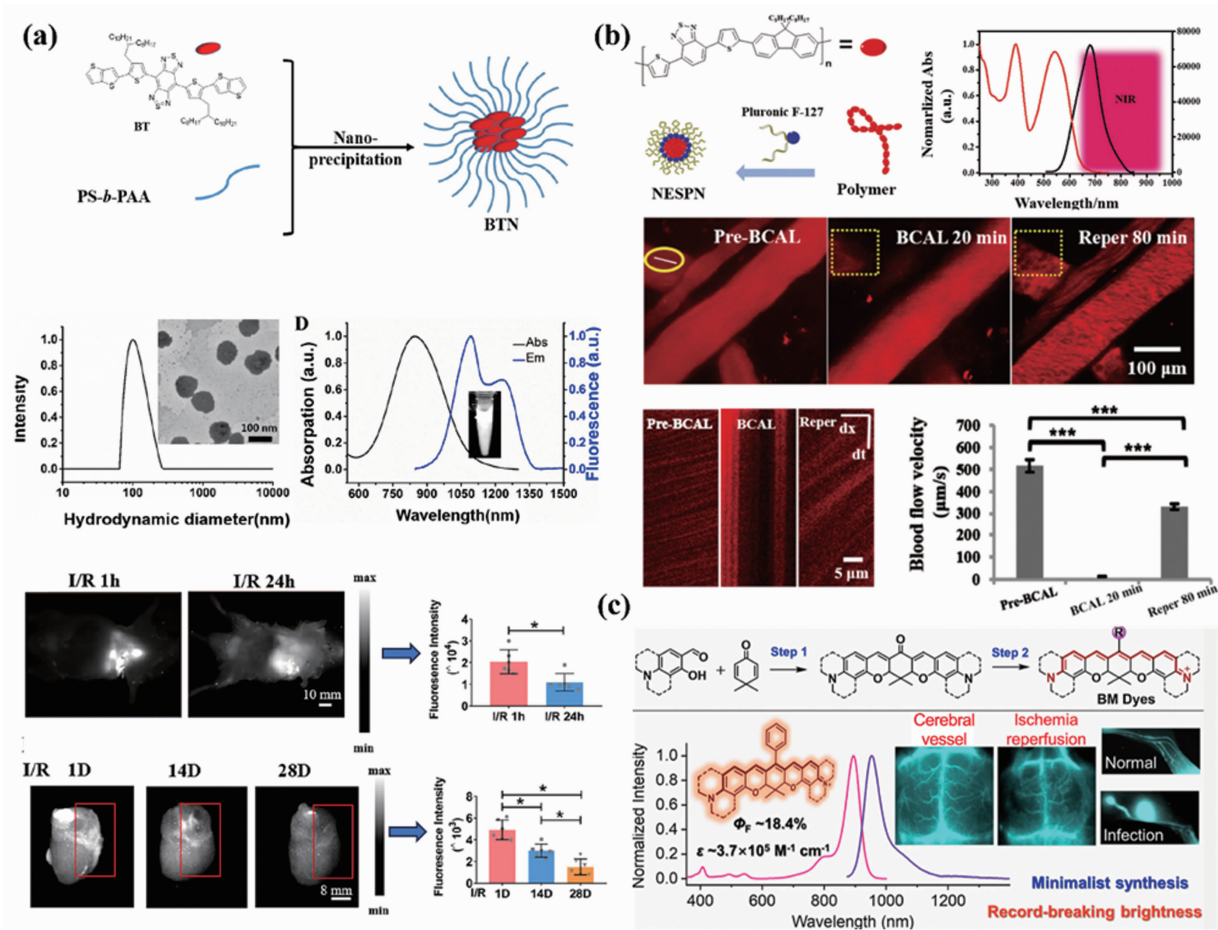


图 2 (a)可用 NIR-II 光触发的水凝胶 BTN 的制备以及用于心脏 IRI 治疗的实时监控^[46]; (b)具有 NIR 荧光发射特征的半导体聚合物纳米颗粒 NESPN 的吸收和发射光谱以及体内脑部 IRI 血管的双光子激发荧光成像展示^[47]; (c)高亮度、高稳定性 BM 荧光团的吸收和发射光谱以及应用于脑部 IRI 的 NIR-II 荧光成像^[48]

升高,并伴随淋巴回流障碍,从而使特定尺寸(通常为 10~200 nm)的纳米探针选择性外渗并滞留于组织间隙。

4.1.1 在心脏 IRI 成像中的应用

Ji J J 等^[46]针对当前 miRNA 递送系统存在的局限性,开发了一种新型 NIR-II 光触发动态共价水凝胶系统。该体系共包封 miR-196c-3p 模拟物以及具备光热转换性能的纳米颗粒 BTN (见图 2(a)),用于心脏 IRI 成像。借助 BTN 的 NIR-II 荧光成像能力,在 1064 nm 激光激发下,实现了对药物释放过程的实时无创监测。该系统为小鼠心功能改善、梗死范围缩小和生存率提高等治疗策略提供了具备时空可控性的非侵入性药物递送与实时监控新方案。

4.1.2 在脑 IRI 成像中的应用

Gong X T 等^[47]首次开发了一种近红外发射半导体聚合物纳米颗粒 NESPN (见图 2(b)),并将其作为双光子荧光探针应用于脑 IRI 的实时高分辨率成像。针对现有脑卒中成像技术灵敏度有限、穿透深度不足以及有机染料易发生光漂白等问题,研究团队基于具有给体-受体结构的半导体聚合物,制备了粒径约为 60 nm、荧光量子产率达到 4.56% 的 NESPN。该探针在 890 nm 飞秒激光激发下表现出优异的双光子吸收性能与光稳定性,其荧光强度在持续辐照下的衰减显著低于绿色荧光蛋白。经实验证实, NESPN 可清晰显示活体小鼠脑微血管结构(分辨率达到微米尺度),并支持长达 6 h 的连续血管成像。探针具备良好神经相容

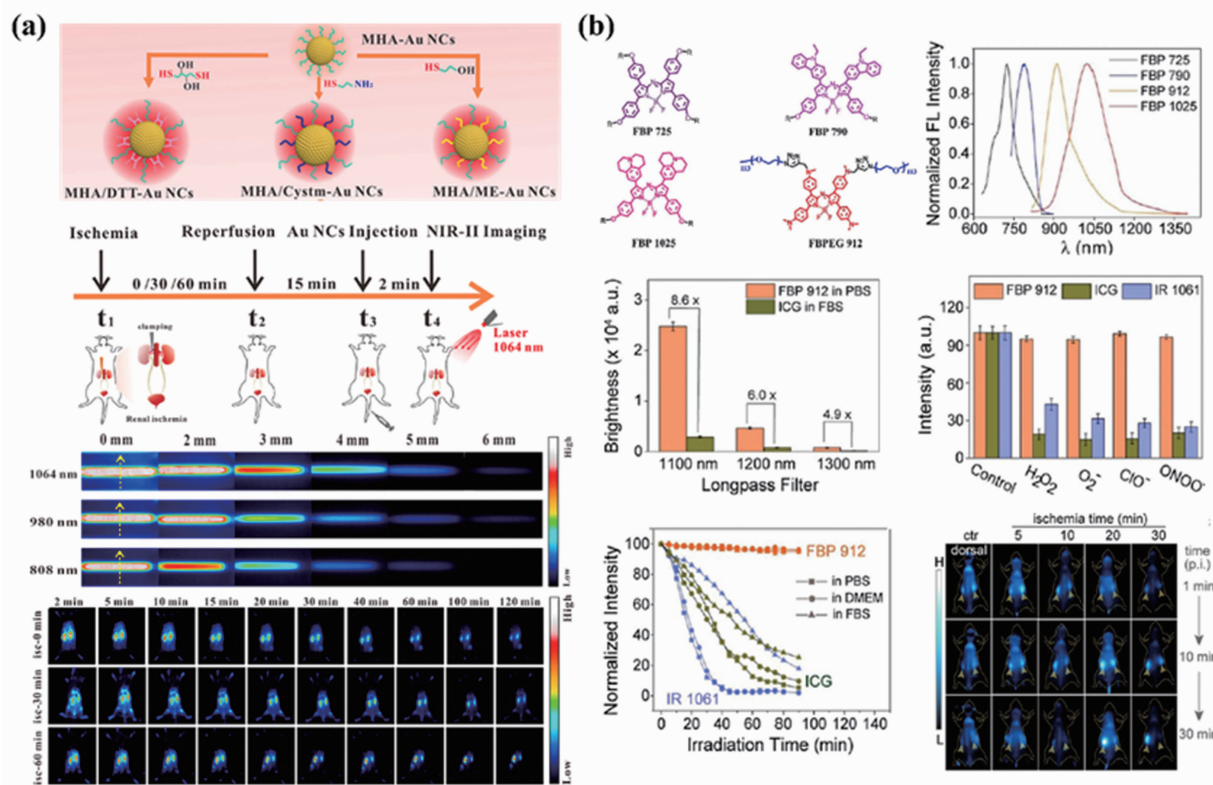


图 3 (a)具有 NIR-II 激发和发射特征并可肾清除的金纳米团簇的制备、体外成像及体内肾 IRI 荧光成像^[49]; (b) NIR-II 有机分子探针 FBP 结构、荧光光谱以及肾 IRI 荧光成像^[50]

性,对神经元形态与树突棘密度无显著影响。进一步研究表明,NESPN可用于动态监测脑血流速度,并准确定位脑缺血模型中的半暗带区域。尤为重要的是,该技术成功实现了对脑缺血及再灌注全程的实时可视化,准确捕捉了血流中断与恢复的动态变化。

Bian H 等^[48]报道了一种通过简便两步法合成的新型高性能 NIR-II 荧光染料家族 BM 染料(见图 2(c)),其代表性分子 BM3 在亮度与稳定性方面取得重要突破。针对现有 NIR-II 荧光团普遍存在的亮度低、合成复杂等问题,研究团队基于商业化原料,设计出具有全刚性平面结构的 BM 染料。其中 BM3 在 DMSO 中的摩尔消光系数为 $3.7 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$,荧光量子产率高达 18.4%。理论计算表明,其优异性能源于高振子强度、窄吸收半峰宽及低电子-声子耦合效应。该染料在生理环境中表现出卓越的光稳定性与化学稳定性,并可通过表面活性剂有效抑制其在水相中的聚集行为。在

活体成像中,BM3 在极低剂量(75 pmol)下即可实现高分辨率淋巴管成像,并精确区分由松节油与金黄色葡萄球菌诱导的两种淋巴炎症模式。在脑 IRI 模型中,BM3 穿透完整颅骨,清晰勾勒出脑部微血管结构,并实时监测到缺血及再灌注过程中血流的阻断与部分恢复,揭示了传统成像方法难以捕捉的微循环损伤细节。

4.1.3 在肾 IRI 成像中的应用

Yi S 等^[49]针对传统 NIR-II 荧光材料肾脏清除效率低的问题,采用双配体稳定策略,开发出一种超小型金纳米簇探针(见图 3(a))。该探针的流体动力学直径精确控制在 2.3~2.8 nm 范围内,恰好满足肾小球滤过的尺寸要求,从而实现了高效的肾脏清除。其量子产率为 1.4%~2.0%,较前期报道提升近一个数量级。在 1064 nm 激光激发下,该探针展现出优异的荧光信号组织穿透性、空间分辨率与信噪比。在肾 IRI 及单侧输尿管梗阻小鼠模型中,活体动态成像可清晰追踪探针经肾小球滤过、

进入集合系统并最终排入膀胱的全过程,并能灵敏区分不同程度的肾功能障碍。其诊断灵敏度显著优于临床常规血清肌酐与尿素氮指标,为急性肾损伤的早期诊断提供了有力工具。

Yao C 等^[50]从有机小分子设计出发,旨在解决多数 NIR-II 有机探针亮度不足与血液循环时间短的关键问题。他们利用原子转移自由基聚合技术,合成了一系列以氮杂-BODIPY 为荧光核心、外围接枝聚乙二醇链的刷状大分子探针,并筛选出性能优异的 FBP912 (见图 3 (b))。该探针的摩尔消光系数高达 $60 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$,整体亮度约为既往可肾脏清除有机探针的 10 倍,兼具优良的光稳定性与抗活性氧淬灭能力。其流体力学直径约为 4 nm,低于肾小球滤过阈值,实现了 12 h 内 65% 的肾脏清除率。独特的刷状构象赋予其长达 6.1 h 的血浆半衰期,显著优于常规线性 PEG 化探针。在肾 IRI 模型中,FBP912 实现了高信噪比成像,其信号变化早于传统血清学指标,能够准确反映早期肾功能损伤,不仅为肾脏疾病的动

态无创监测提供了高性能工具,也为肿瘤等疾病的成像诊断开辟了新途径。

4.1.4 在肢体 IRI 成像中的应用

Li B 等^[51]报道了一种具有长循环特性的有机小分子探针 LZ-1105 (见图 4(a))。该探针的吸收与发射波长均超过 1000 nm,属于 NIR-II 窗口,其血液循环半衰期长达 3.2 h,显著优于临床常用的吲哚菁绿染料。这一长循环特性为持续观察血管生理与病理过程提供了充分时间窗口。基于 LZ-1105,研究者不仅可获得高分辨率、高信噪比的静态血管解剖图像,还能对下肢 IRI、颈动脉血栓溶解以及血脑屏障开放与修复等动态过程进行实时监测,显著拓展了 NIR-II 成像在血管功能研究中的应用范围。

Jia Q 等^[52]基于无机材料体系,设计了一种铒掺杂稀土纳米探针——Er-DCNPs (见图 4 (b))。通过 Nd^{3+} 敏化与 Ce^{3+} 共掺杂策略,显著提升了探针在 1530 nm 处的下转换发光效率。活体动物模型实验显示,该探针具备高达

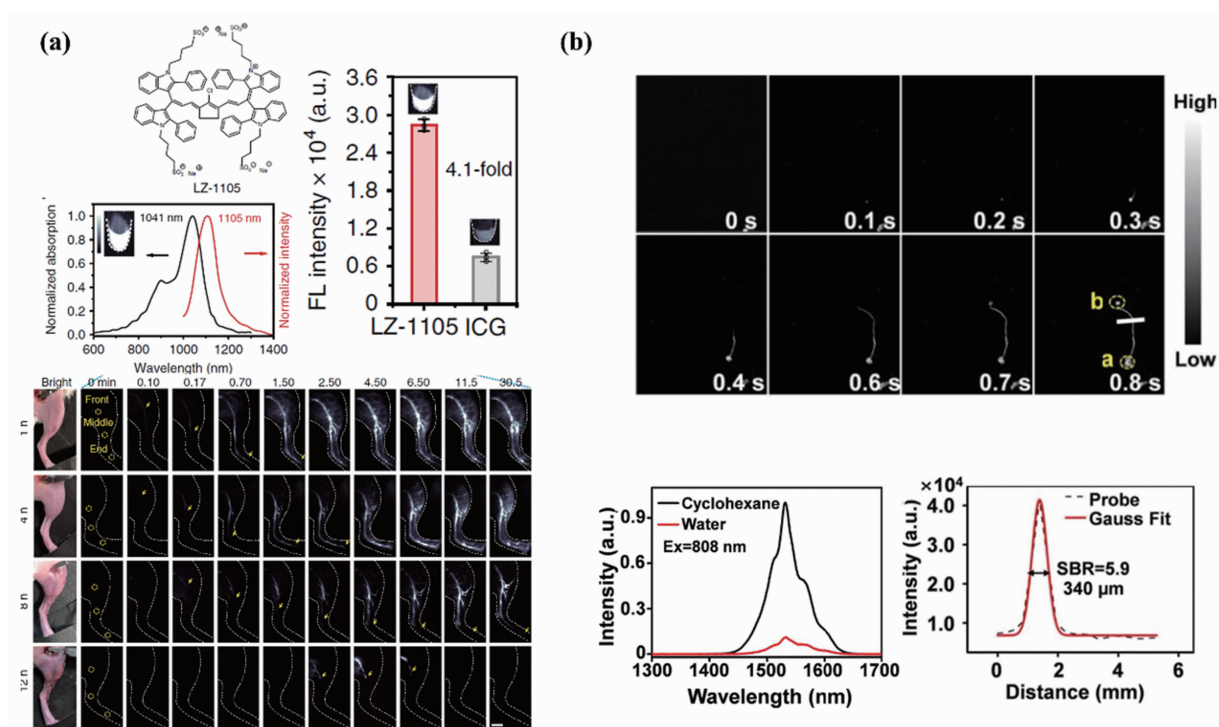


图 4 (a)具有长血液半衰期的有机 NIR-II 荧光分子 LZ-1105 的吸收和发射光谱图以及用于体内血管的 NIR-II 动态荧光成像^[51]; (b)基于铒基镧系 1500 nm 发射的纳米探针血管灌注动态成像展示及荧光光谱图^[52]

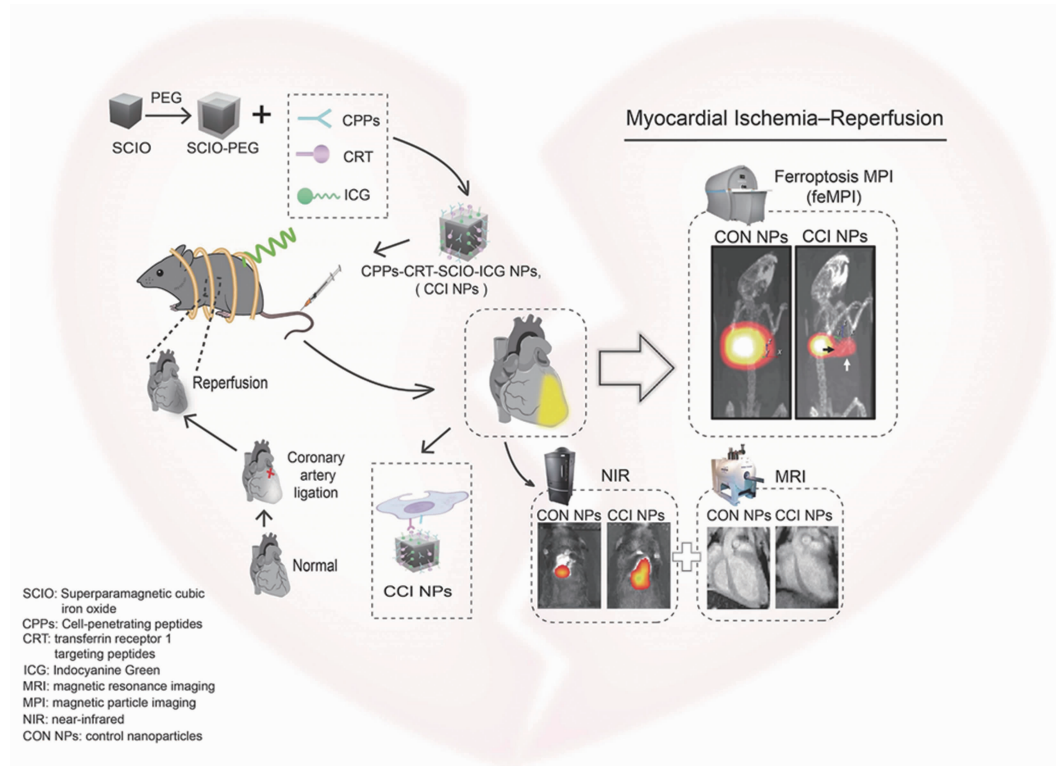


图 5 靶向铁死亡的多模态成像平台用于心脏 IRI 成像^[53]

7 mm 的组织穿透能力与优异的空间分辨率。在小鼠周围动脉疾病模型中, Er-DCNPs 不仅能清晰显示下肢血管的精细解剖结构, 还可实时、定量评估血流恢复情况和监测血栓溶解过程, 并成功实现心率与呼吸频率等关键生理参数的无接触测量, 显示出在诊疗一体化方面的广阔潜力。

4.2 靶向性探针

为提高成像特异性与信噪比, 靶向型探针通过偶联特异性配体(如抗体、多肽、小分子), 主动识别并结合 IRI 病灶区过表达的生物标志物(如黏附分子、酶类、受体), 实现对损伤区域的精准定位。

4.2.1 在心脏 IRI 成像中的应用

铁死亡作为一种铁依赖性的程序性细胞死亡方式, 在心肌 IRI 中被证实具有关键作用。Yang W 等^[53]构建了一个靶向铁死亡的多模态成像平台(见图 5)。该团队设计了多功能纳米探针 CCINPs, 其核心为超顺磁性立方氧化铁纳米颗粒(用于 MRI 成像), 表面修饰吲哚菁绿(用于 NIR 荧光成像)、细胞穿透肽以及靶

向转铁蛋白受体 1 (在铁死亡心肌细胞中上调表达)的靶向肽, 显著增强了对受损心肌细胞的靶向性与摄取效率。在小鼠冠状动脉左前降支结扎所致心肌 IRI 模型中, 该探针通过 MRI/NIR-FL 双模态成像, 首次实现了对心肌组织中铁死亡过程的在体、定量可视化, 为心血管疾病的精准诊断与疗效评估提供了新工具。

4.2.2 在脑 IRI 成像中的应用

血脑屏障的存在严重限制了多数探针的脑部递送效率。Seyda M Z 等^[54]开发了一种基于“血小板搭便车”策略的递送系统(见图 6(a))。他们制备了岩藻多糖修饰的脂质纳米颗粒, 负载 NIR 染料 IR780 (构成 T-IR780 探针)或治疗药物三碘甲状腺原氨酸。岩藻多糖可特异性结合血小板表面高表达的 P-选择素, 从而借助血小板为载体, 使纳米颗粒高效跨越受损血脑屏障, 富集于脑 IRI 病灶。活体 NIR-II 成像显示, 静脉注射 T-IR780 后, 探针在缺血脑区的信号于 2 h 达峰, 且显著高于非靶向对照组。离体器官成像进一步证实其在脑部的特异性聚

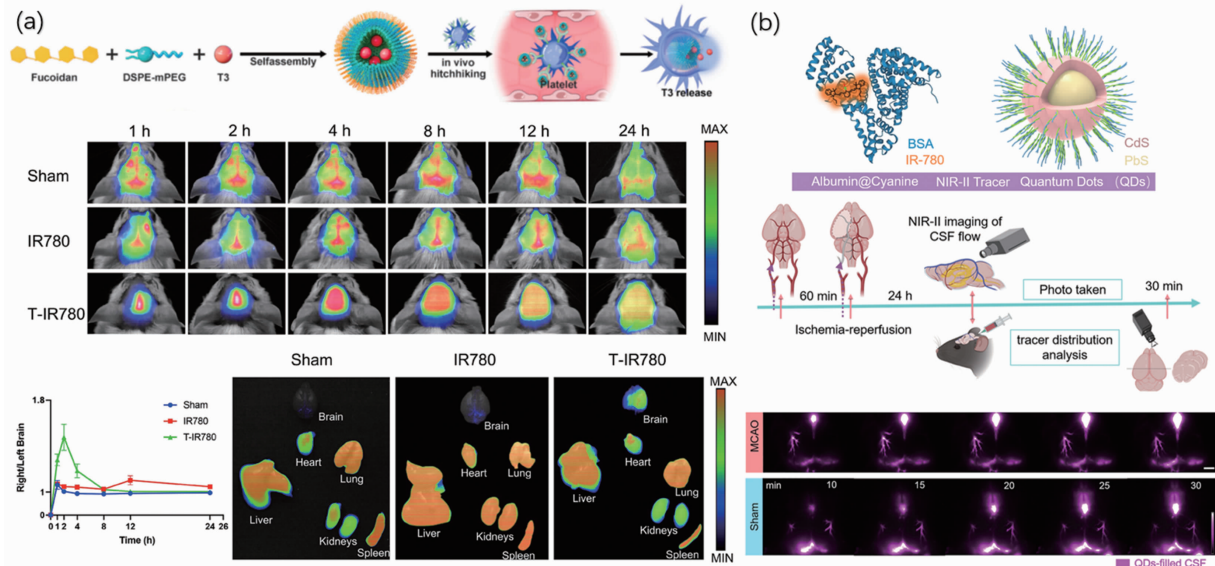


图 6 (a) 通过结合血小板穿透血脑屏障靶向脑部缺血区域进行脑部 IRI 荧光成像^[54]; (b) 利用量子点与 BSA@IR-780 实现脑部 IRI 荧光成像^[55]

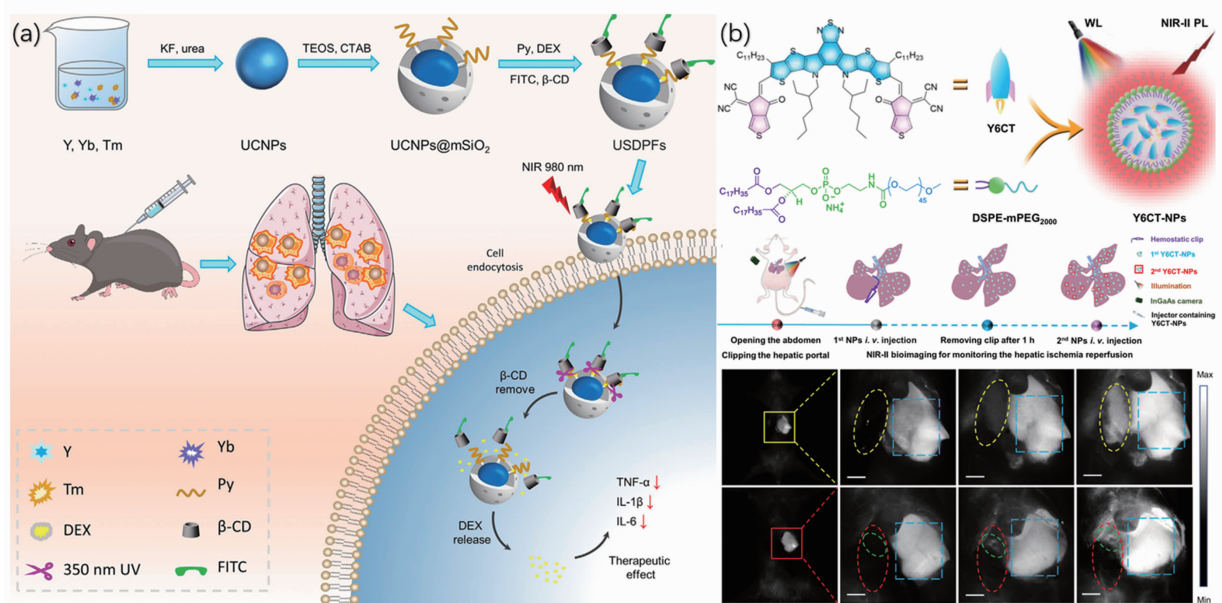


图 7 (a) USDPFs 纳米颗粒用于肺 IRI 上转换发光成像^[56]; (b) Y6CT 纳米颗粒用于肝脏 IRI 发光成像^[57]

集能力。该生物启发策略为脑部靶向递送提供了新思路。

此外,脑类淋巴系统在代谢废物清除中起关键作用,其功能障碍与脑 IRI 密切相关。Sun B 等^[55]利用 NIR-II 纳米探针(量子点与 BSA@IR-780),经小脑延髓池注射模拟脑脊液循环,结合 NIR-II 成像技术无创、动态监测了麻醉及脑 IRI 条件下类淋巴系统功能的变化(见图 6(b))。该技术可穿透完整头皮,高

分辨率实时观察脑脊液沿血管周围间隙的流动,为理解卒中中等枢神经系统疾病的机制提供了在体研究手段。

4.2.3 在肺 IRI 成像中的应用

He X 等^[56]构建了一种诊疗一体化的上转换纳米平台——USDPFs(见图 7(a))。该平台以核壳结构上转换纳米颗粒为核心,外包覆介孔二氧化硅,修饰光敏剂 γ -氧-1-苊丁酸并负载抗炎药物地塞米松,最后采用异硫氰酸荧光

素标记的 β -环糊精封堵孔道。在 980 nm 激光激发下, UCNP 将深部组织可穿透的近红外光转化为局部紫外-可见光, 触发光敏剂分解并控制释放地塞米松, 同时实现深部组织光学成像。在小鼠肺 IRI 模型中, 静脉注射后 NIR 成像显示探针在肺部特异性富集, 实现了治疗与成像同步进行, 展示了上转换材料在胸外科精准医疗中的应用潜力。

4.2.4 在肝 IRI 成像中的应用

Li C 等^[57]合成了一种新型有机 NIR-II 成像剂——Y6CT 纳米颗粒(见图 7(b))。通过巧妙的分子设计, 利用 Y6CT 分子间及分子内强给体-受体相互作用, 所制备纳米颗粒在临床腹腔镜常用白光 LED 激发下即可产生高亮度 NIR-II 荧光。通过对比血管结构完整的肝脏与经历 IRI 后血管受损肝脏的 NIR 成像, 清晰展示了 Y6CT 纳米颗粒对肝 IRI 的灵敏成像能力, 为术中实时评估肝脏灌注与损伤范围提供了有前景的工具。

4.2.5 在肾 IRI 成像中的应用

Zhu D 等^[58]开发了一种 NIR-II 光触发智能递送系统——PLK3-LIP(见图 8(a)), 用于肾 IRI 的成像与治疗。他们在包裹 PLK3 激酶抑制剂的脂质体表面修饰 NIR-II 染料 FD-1080 作为光吸收剂。在 1080 nm 激光照射下, 染料产生的光热效应可使脂质体膜破裂, 精准控制

药物在肾脏损伤部位释放, 同时利用 NIR-II 窗口进行高穿透深度成像。在肾 IRI 小鼠模型中, 静脉注射 PLK3-LIP 后, 通过实时 NIR 荧光信号可动态观察探针在缺血肾脏的特异性富集(信号于 12 h 达峰), 从而实现损伤区域的可视化。该研究首次将 NIR-II 光触发释放与靶向递送相结合, 为肾 IRI 的精准诊疗提供了新策略。

4.2.6 在肢体 IRI 成像中的应用

Ji A 等^[59]开发了一套白光 LED 激发的 NIR-II 成像系统(见图 8(b))。其核心创新是设计合成了一种具有给体-受体-给体结构的蓝移 NIR-II 有机染料——TPA-TQT。该染料吸收光谱与 400~700 nm 白光 LED 发射谱有效重叠, 可被安全、低成本的白光高效激发, 产生强烈的 1000~1400 nm 荧光。与 ICG 相比, TPA-TQT 光稳定性更优, 适于长时间动态成像。在小鼠后肢 IRI 模型中, 该系统以 103 μm 的高分辨率清晰显示后肢微血管网络, 并成功监测到再灌注后炎症细胞浸润的动态过程。定量分析进一步表明, 成像信号强度与组织损伤程度呈线性相关, 显示出定量评估潜力。该研究通过染料创新与系统优化, 提供了一种更安全、经济且便携的 NIR-II 成像方案, 为临床术中实时监测(尤其是内窥镜应用)开辟了新前景。

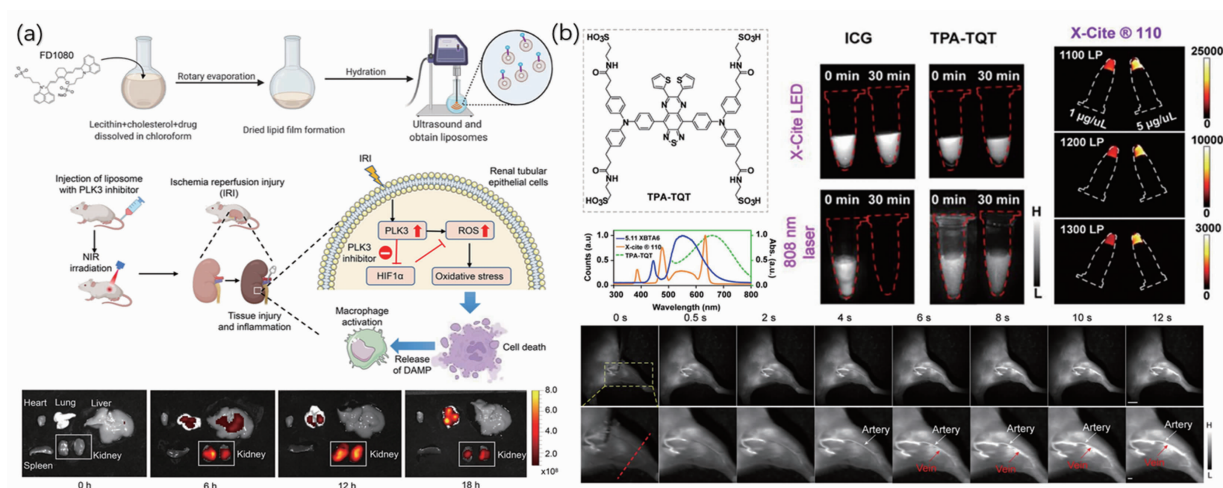


图 8 (a) PLK3-LIP 用于肾 IRI 的荧光成像与治疗^[58]; (b) TPA-TQT 用于白光激发的小鼠后肢 IRI 荧光成像^[59]

非响应性 NIR 荧光探针通过被动靶向 (EPR 效应) 或主动靶向 (特异性分子识别) 策略, 为 IRI 研究提供了强大的在体可视化工具。当前发展聚焦于提升探针亮度、稳定性与生物安全性, 并推动其向诊疗一体化、多模态成像及临床适用性方向演进。尽管在靶向效率与临床转化方面仍面临挑战, 但这些探针已显著深化了我们对 IRI 病理机制的理解, 并在精准医学领域展现出广阔的应用前景。

5 响应性 NIR 荧光探针在 IRI 成像中的应用

响应性探针是 IRI 分子成像的主力军, 它们能够将不可见的生物分子事件转化为可检测的光学信号, 实现对特定病理过程的“报告”。

5.1 氧化性物种响应探针

氧化应激是 IRI 的核心环节, 针对各类 ROS/RNS 的探针研究尤为广泛。

5.1.1 在脑 IRI 成像中的应用

在过氧亚硝酸盐 (ONOO^-) 检测方面, Shang J 等人^[60]开发了基于胍类识别基团的探针 TJO (见图 9(a))。它在 730 nm 处发射荧光, 斯托克斯位移为 167 nm, 对 ONOO^- 具备高选

择性、快速响应 (2 min 内) 与高灵敏度 (检测限 91 nM), 成功实现了脑 IRI 小鼠模型中 ONOO^- 的动态成像。Xie C 等人^[61]设计探针 SWJT-37 (见图 9(c)), 借助三氟甲磺酸酯基团识别超氧阴离子 ($\text{O}_2^{\bullet-}$), 在 667 nm 处产生近红外荧光。其检测限为 3.88 nM, 荧光增强 51 倍, 并具有良好的血脑屏障穿透性, 已应用于脑 IRI 大鼠模型中的内源性 $\text{O}_2^{\bullet-}$ 成像。更具突破性的是, Xu L 等人^[62]通过对经典 DCF 染料进行分子工程改造, 构建了发射波长红移至 1026 nm 的 NIR-II 分子 CR-OH, 并基于此开发了 $\text{O}_2^{\bullet-}$ 激活探针 CR (见图 9(b)), 首次在脑 IRI 模型中实现了内源性 $\text{O}_2^{\bullet-}$ 的 NIR-II 荧光成像。该研究为脑卒中氧化应激机制解析提供了先进的分子工具。

5.1.2 在肾 IRI 成像中的应用

针对传统 NIR-II 探针生物相容性差与代谢缓慢的问题, Zeng C 等人^[63]开发了新型 NIR-II 荧光/光声双模成像探针——PEG3-HC-PB (见图 10(b))。该探针基于七甲川菁结构, 通过在共轭骨架中引入 3 个 PEG_3 片段, 有效分割疏水区域, 显著提升水溶性与肾脏清除能

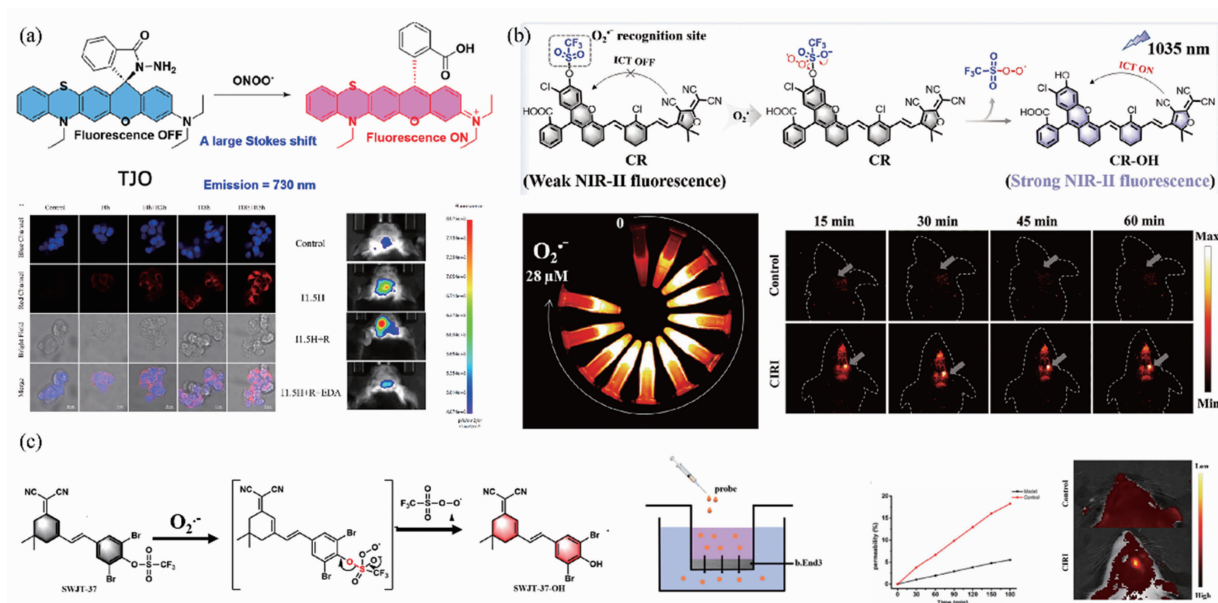


图 9 (a) 基于胍的 NIR 荧光探针 TJO 在细胞与脑 IRI 小鼠模型中对 ONOO^- 的实时监测^[60]; (b) 分子工程化 2',7'-二氯荧光素的 $\text{O}_2^{\bullet-}$ 响应机制及活体 NIR II 脑 IRI 荧光成像^[62]; (c) $\text{O}_2^{\bullet-}$ 激活的 NIR 荧光探针穿透血脑屏障实现选择性示踪脑 IRI^[61]

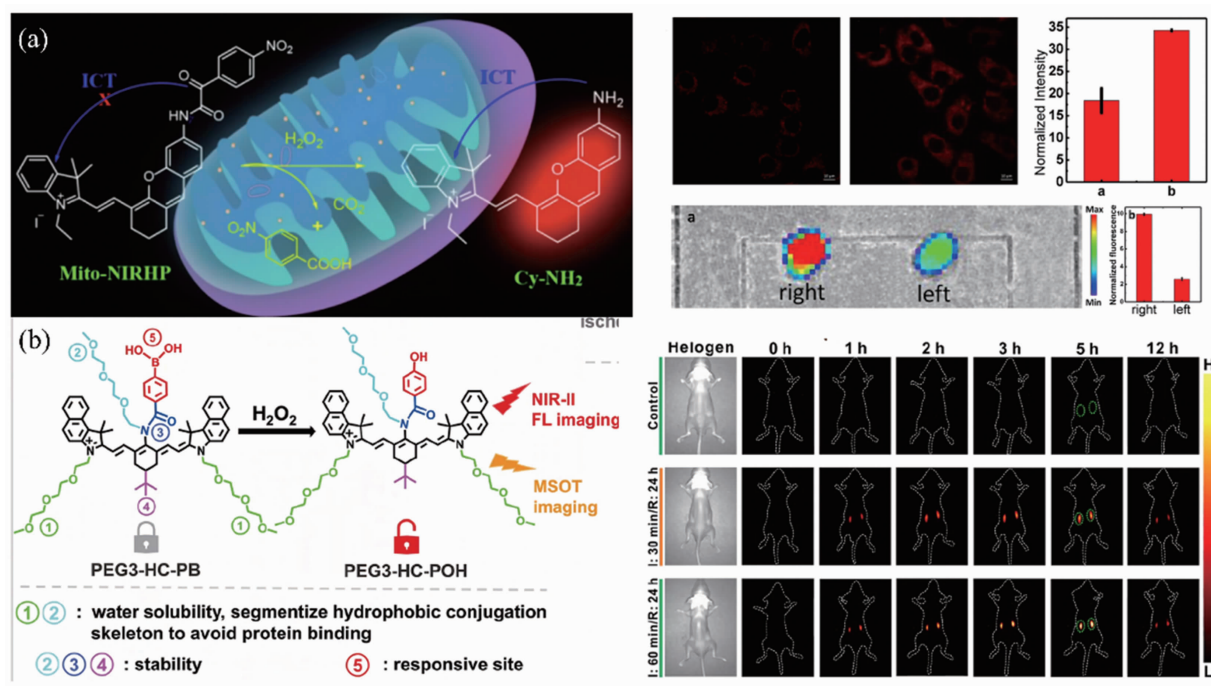


图 10 (a)基于 α 酮酰胺的 H_2O_2 NIR 荧光探针 Mito-NIRHP 的响应机理及其在肾 IRI 活体模型中的特异性检测^[64]; (b)可肾清除型探针 PEG3-HC-PB 通过 NIR-II 荧光和光声成像实现生物标志物激活检测肾 IRI^[63]

力(尺寸小于 6~8 nm), 并降低蛋白非特异性吸附。其识别机制依赖于 H_2O_2 触发苯硼酸基团转化为苯酚, 恢复 NIR-II 荧光(峰值为 950 nm)并增强光声信号(峰值为 830 nm)。在药物或缺血再灌注诱导的小鼠急性肾损伤模型中, 该探针实现了肾脏区域 H_2O_2 的高信噪比、实时三维多光谱光声与 NIR-II 荧光双模态成像。

Xie X 等人^[64]则聚焦于细胞器水平的氧化应激监测, 开发了线粒体靶向探针 Mito-NIRHP(见图 10(a))。该探针利用 H_2O_2 对 α 酮酰胺的亲核攻击引发 Baeyer-Villiger 重排及水解, 释放荧光团 Cy-NH₂, 实现 670 nm/704 nm 波长的荧光开启响应。Mito-NIRHP 对 H_2O_2 具有高特异性, 不受其他 ROS/RNS 或生物硫醇干扰, 检测限为 26 nM, 响应时间约 10 min。在线粒体靶向基团引导下, 该探针成功用于监测细胞线粒体内源性 H_2O_2 波动, 并在小鼠肾 IRI 模型中揭示了损伤区域线粒体内 H_2O_2 的显著升高。

5.1.3 在肝 IRI 成像中的应用

Song D 等人^[65]构建了一种基于稀土掺杂

纳米颗粒与钼基多金属氧簇的 NIR-IIb 区可逆探针——REPOMs(见图 11(a))。该探针利用 Mo^{5+}/Mo^{6+} 之间的价态变化, 实现对 ROS 与谷胱甘肽循环的可逆响应, 并借助吸收竞争诱导发光机制实现比率型信号输出。REPOMs 在体外与体内均表现出良好的稳定性、选择性和可逆性, 可用于实时监测肝 IRI 过程中 ROS 的动态波动, 并为缺血预处理与药物干预提供评估依据。

Chen J 等人^[66]设计了基于苯并噻二唑核心的 AIE 活性纳米探针 BTPE-NO₂@F127(见图 11(b))。该探针以硝基苯氧乙酰胺作为识别与淬灭基团, 在 H_2O_2 作用下断裂释放强 NIR-II 荧光(950~1200 nm)与光声信号的发色团 BTPE-NH₂。该探针具备良好水分散性、生物相容性和高信噪比, 成功应用于间质性膀胱炎、药物性肝损伤以及肝 IRI 等多种炎症模型的双模态成像, 实现了对病灶区域的精准定位。

5.2 还原性物种响应探针

细胞内抗氧化系统的动态平衡在 IRI 中具

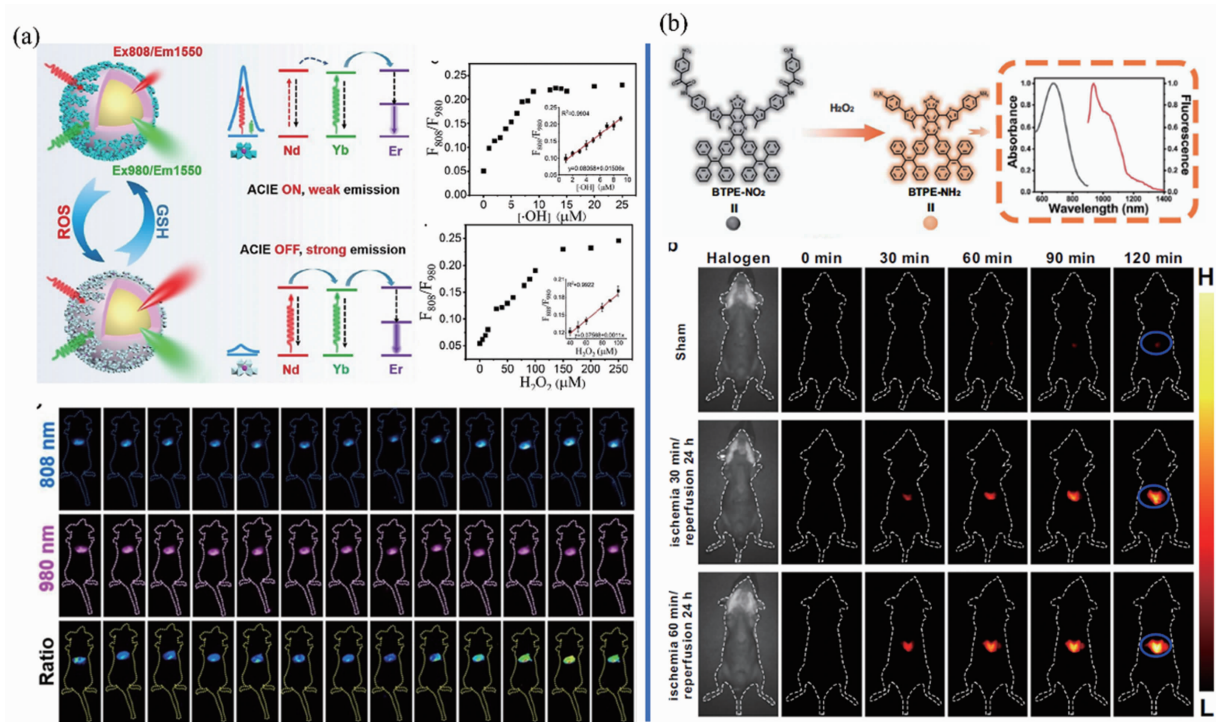


图 11 (a)利用可逆的 NIR-II 荧光氧化还原探针 REPOMs 实时追踪肝 IRI^[65]; (b) H_2O_2 激活型纳米探针 BTPE- NO_2 @F127 通过多光谱光声断层扫描和 NIR-II 荧光成像诊断肝 IRI^[66]

有重要作用，其失调是损伤进程的重要标志。

5.2.1 在心和肺 IRI 成像中的应用

Luo X 等人^[67]构建了一种近红外光激活的双响应纳米探针——UCNP@mSiO₂@SP-NP-NAP(见图 12(a))，用于同步检测心肌 IRI 过程中的氢多硫化物与二氧化硫。该探针基于上转换纳米颗粒，可将 980 nm 光转化为紫外光以激活光响应染料，分别实现对 H_2S_n 与 SO_2 的荧光检测。此体系具备良好的光控可逆性与高时空分辨率，在体外对 SO_2 与 H_2S_2 的检测限分别为 0.24 μM 与 0.18 μM 。在细胞及小鼠 I/R 模型中，该探针成功监测到 H_2S_n 与 SO_2 水平的上调，并通过抑制铁死亡关键蛋白 GPX4 证实二者在缓解心肌 IRI 中的潜在作用。

Jiang L 等人^[68]设计了一种基于铱配合物的 NIR 探针——NIR-Ir-BDS(见图 12(b))。该探针以 2,4-二硝基苯磺酰胺为识别基团，可在生物硫醇作用下裂解释放强 NIR 发射的 NIR-Ir-BH。该探针具备大斯托克斯位移(172 nm)、667 nm 发射波长、16.7 nM 检测限以及快速响应(20 min 内)，其阳离子特性与脂溶性使其

特异性靶向线粒体。在铁死亡介导的肺 IRI 模型中，该探针首次实现了小鼠肺组织中线粒体生物硫醇的动态成像。结果显示，随着缺血时间的延长，线粒体生物硫醇显著耗竭，而铁死亡抑制剂干预可逆转该过程。

5.2.2 在脑 IRI 成像中的应用

在脑 IRI 研究方面，Yang Y 等人^[69]首先构建了基于自消除化学的 NIR-HMPC 探针(见图 13(a))。该探针利用“硫醇-色烯”点击反应触发自消除过程，释放 NIR 荧光团 NIR-OH，具备快速响应(数分钟内)、高灵敏度(对 Cys 的检测限为 0.39 μM)以及线粒体靶向能力。该探针不仅在细胞层面成功监测了氧化应激与凋亡过程中硫醇的动态变化，还在脑 IRI 小鼠模型中实现了脑组织硫醇水平的初步动态成像，为探索脑 I/R 过程中硫醇代谢的时程变化提供了有效手段。

该团队随后开发了探针 DCI-Ac-Py(见图 13(b))^[70]。该探针以吡啶甲酸酯为识别基团，在生物硫醇作用下触发酯键断裂及分子内环化，实现 713 nm 处的荧光开启响应，对 Cys、

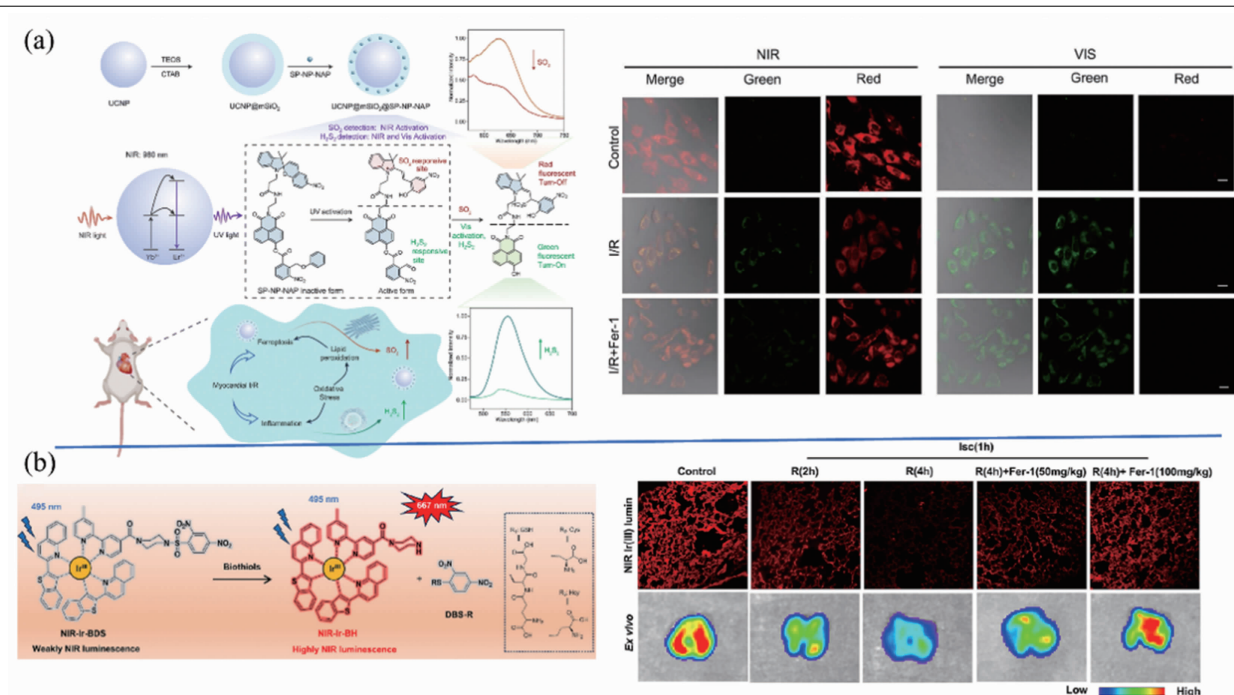


图 12 (a) NIR 光激活纳米探针同时检测 H_2S_n 与 SO_2 在心脏 IRI 中的作用^[67]; (b) 新型 NIR 铁(III)配合物探针用于精准成像铁死亡介导的肺 IRI 中线粒体生物硫醇的变化^[68]

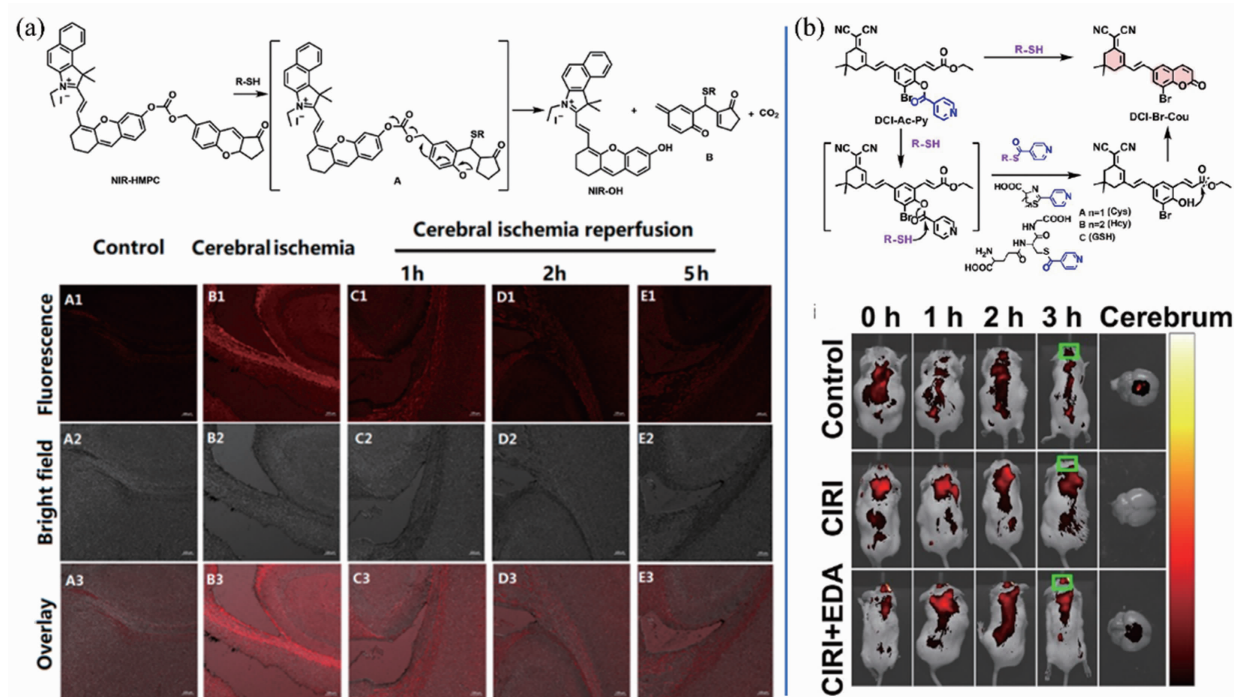


图 13 (a) 硫醇-色烯“点击”反应触发自消解的 NIR 荧光探针用于小鼠脑 IRI 过程中硫醇通量的可视化^[69]; (b) 荧光探针 DCI-Ac-Py 用于探究生物硫醇在脑 IRI 相关信号通路中的作用^[70]

GSH 和 Hcy 的检测限分别为 27 nM、55 nM 和 74 nM。该探针具备良好的血脑屏障穿透能力, 可在活体层面实时监测脑内生物硫醇波

动, 并发现其变化与 NF- κ B 信号通路的激活密切相关, 为理解脑 I/R 分子机制提供了新视角。

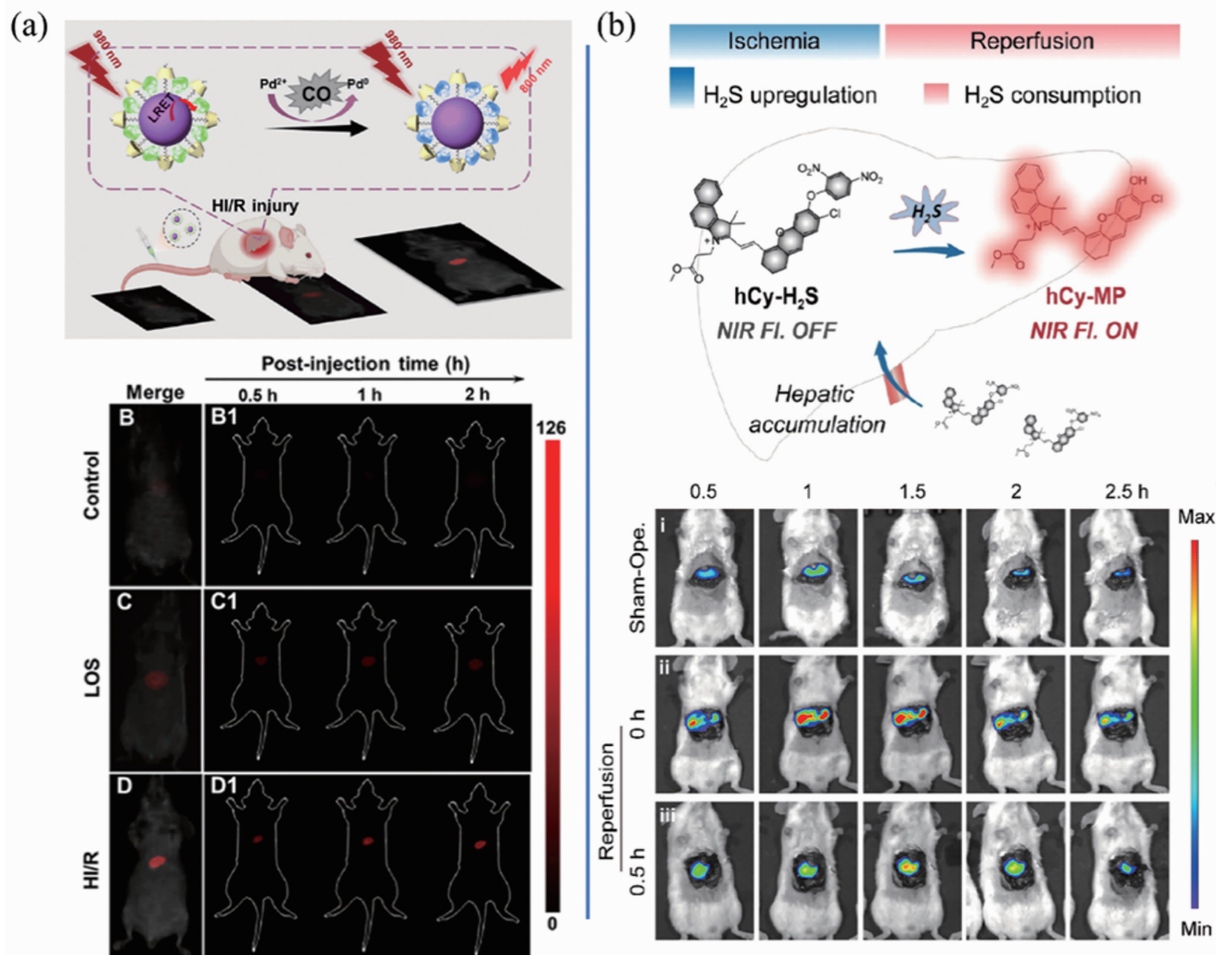


图 14 (a)利用 CO 激活的上转换发光纳米颗粒对肝 IRI 进行深度发光成像^[71]; (b)荧光探针 hCy-H₂S 用于原位追踪肝 IRI^[72]

5.2.3 在肝 IRI 成像中的应用

Ye M 等人^[71]设计了一种基于上转换纳米颗粒的 NIR 上转换发光纳米系统(见图 14(a)),用于一氧化碳检测。该体系由 CyOND 染料修饰的 NaYF₄:Yb/Tm UCNPs 与 PdCl₂ 组成,利用发光共振能量转移机制,在 CO 存在下触发 NIR 上转换发光增强。该探针具有高选择性、高组织穿透性和低背景干扰等优点,成功应用于活细胞、斑马鱼以及小鼠肝 IRI 模型中 CO 的生物信号可视化,并验证了 CO 在肝 IRI 中的保护作用。

Xiong S 等人^[72]开发了 H₂S 激活的 NIR 荧光探针 hCy-H₂S(见图 14(b))。该探针以 DNP 为识别单元,在 H₂S 作用下裂解释放强 NIR 荧光团 hCy-MP,具备高灵敏度(检测限为 0.16 μM)、快速响应和良好生物相容性。该探

针在肝脏中优先富集,可在细胞及小鼠肝 IRI 模型中实时、原位成像 H₂S 波动,揭示其在氧化应激缓解中的关键作用。

以上两项研究分别针对 CO 和 H₂S 这两种具有细胞保护作用的气体信号分子,开发了具有高时空分辨率的 NIR 光学探针,实现了在肝 IRI 过程中的动态、原位成像,为理解其分子机制及早期诊断提供了重要技术支撑。

5.3 酶响应探针在肝和下肢 IRI 成像中的应用

特定酶的激活为 IRI 成像提供了高特异性靶点。Hong S J 等人^[73]构建了双酶激活的 NIR 荧光探针 QN-NIR(见图 15(a)),用于肝缺血的早期检测。该探针整合了 hNQO1 敏感的 TLQ 基团与 NTR 敏感的 NB 基团,仅在两种酶共存时通过 PET/ICT 机制解除荧光淬灭,

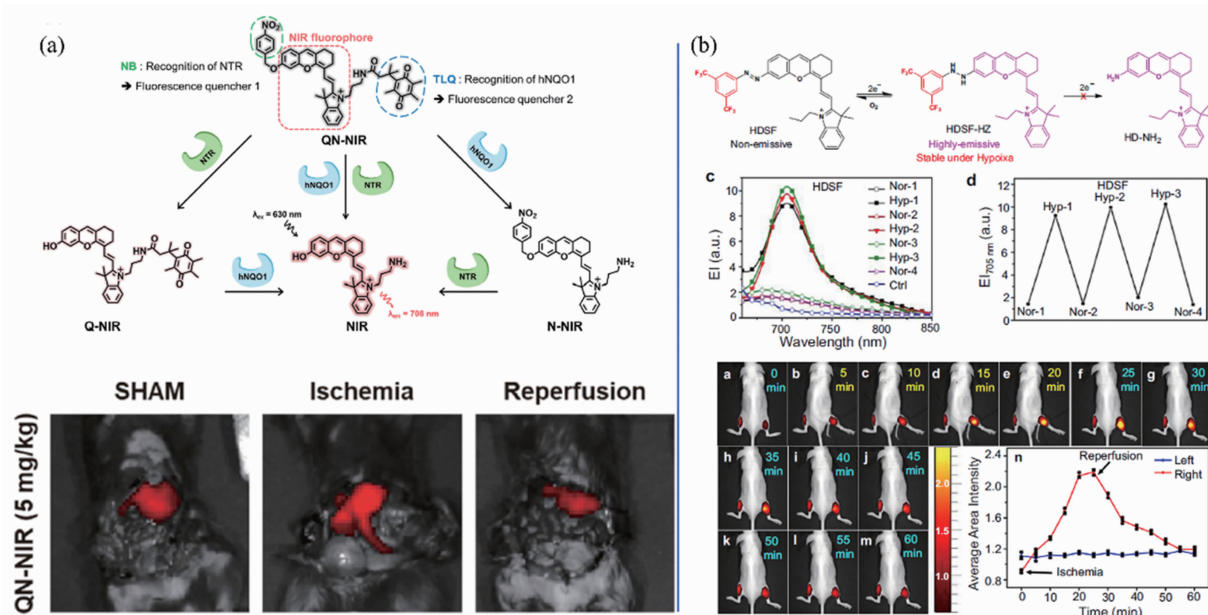


图 15 (a)利用双酶激活 NIR 荧光探针 QN-NIR 进行肝脏 IRI 过程的体内监测^[73]; (b)可逆的偶氮基 NIR 探针 HDSF 用于下肢 IRI 疾病的缺氧荧光成像^[74]

产生 708 nm NIR 发射, 具备高信噪比与低背景干扰。在小鼠肝缺血模型中, 该探针在缺血区域的荧光显著升高, 再灌注后信号回落, 表明其可特异性识别缺血阶段。

Zhang Y 等人^[74]开发了可逆性芳基偶氮 NIR 探针 HDSF (见图 15(b)), 用于在体循环乏氧成像。该探针通过引入三氟甲基稳定还原中间体, 阻断 N-N 键不可逆裂解, 实现在乏氧-常氧循环中的可逆荧光开关响应(发射波长为 705 nm)。HDSF 具备良好生物相容性、线粒体靶向能力与高选择性, 成功用于小鼠实体瘤及肢体 IRI 模型中的乏氧动力学实时成像。

上述探针分别从“双酶协同检测”与“可逆识别循环乏氧”两个角度拓展了 NIR 成像在 IRI 研究中的应用。

5.4 pH 响应探针在脑 IRI 成像中的应用

缺血区域的酸性微环境是 IRI 的关键病理特征与重要成像靶点。Cheng Y 等^[75]构建了 pH 响应型多功能纳米系统 (见图 16(a)), 用于急性缺血性脑卒中的诊疗一体化。该体系利用缺血区酸性环境实现雷帕霉素的靶向控释, 同时整合 Gd³⁺ 与 Ce6 分子, 赋予其酸增强的 MRI 与 NIR 荧光双模态成像功能。在大鼠脑

中动脉阻塞模型中, 该系统显著改善了神经功能评分、梗死体积和炎症水平。

Yao S 等^[76]开发了 pH 响应型 NIR 荧光脂质体探针 BOD@Lip (见图 16(b)), 用于脑缺血程度的实时评估。该探针以 Aza-BODIPY 为荧光核心, 在酸性条件下荧光增强, 可穿越受损血脑屏障并在缺血区域富集。此研究建立了荧光信号强度与神经功能缺损评分之间的定量关联, 并通过多模态技术验证了其评估准确性。

上述研究展示了 pH 响应型纳米材料在脑卒中诊疗中的广泛应用前景, 为缺血性脑卒中的精准医疗提供了新思路。

5.5 其他微环境参数响应探针在 IRI 成像中的应用

细胞微环境的物理参数 (如粘度、极性) 在 IRI 中发生剧烈变化, 并扮演着承上启下的核心角色。它们作为连接分子事件与细胞命运的关键桥梁, 正成为理解 IRI 机制和开发新策略的重要突破口。

在脑缺血研究中, Hu W 等^[77]报道了一种具有大斯托克斯位移 (290 nm) 的 NIR 荧光探针——XZTU-Mito-Vis (见图 17(a))。它基于

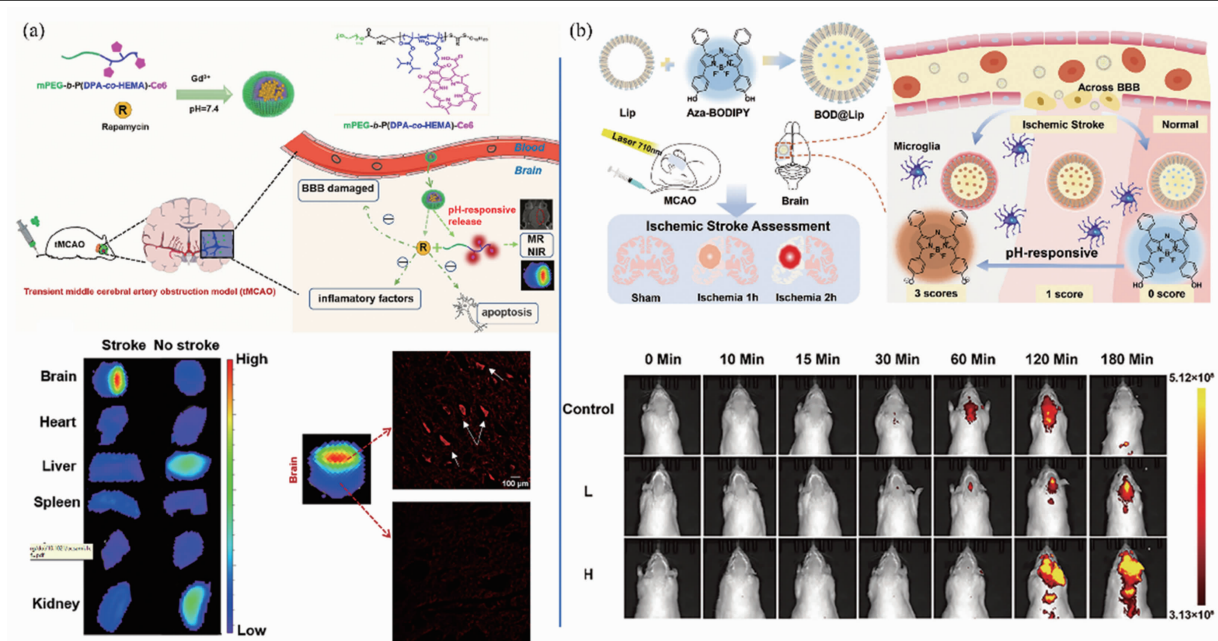


图 16 (a) pH 响应型多功能纳米颗粒用于急性缺血性脑卒中的荧光成像^[75]；(b) pH 响应型 NIR 脂质体探针 BOD@Lip 用于对缺血性脑卒中进行实时评估^[76]

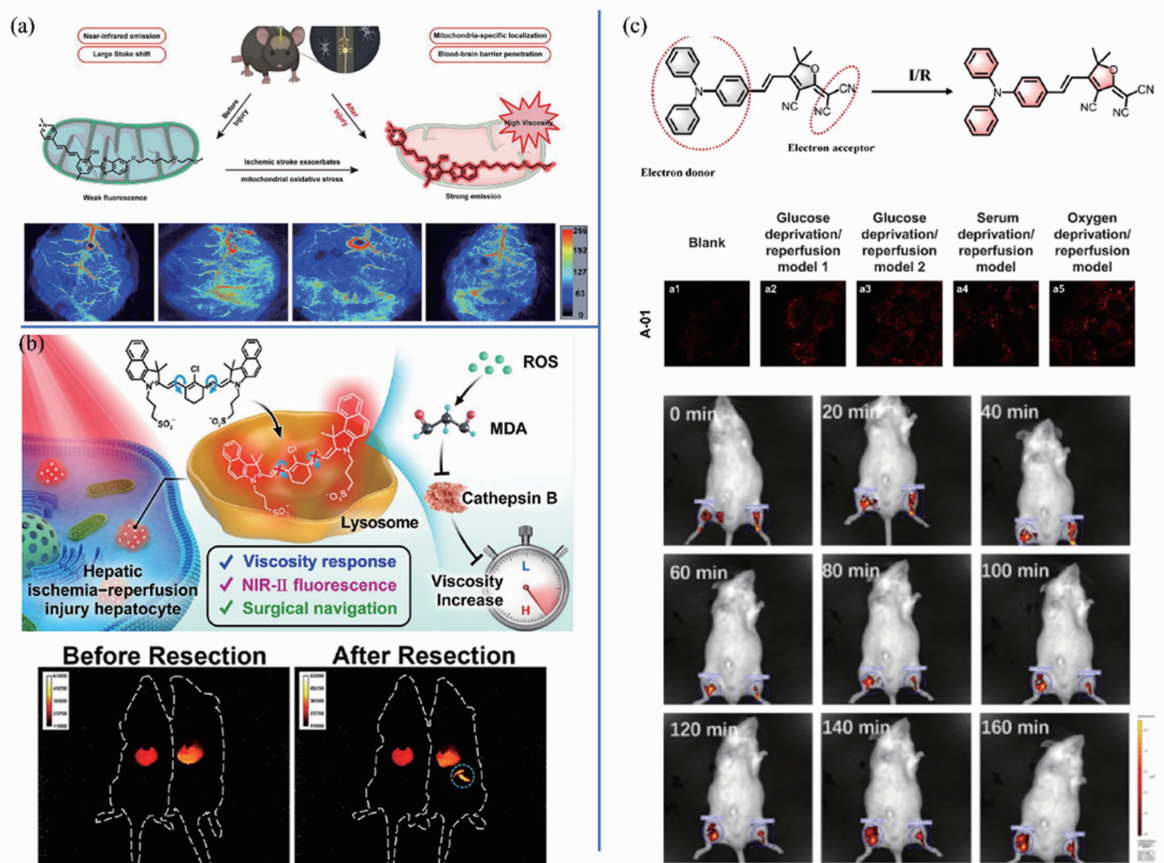


图 17 (a)通过检测线粒体粘度将大斯托克斯位移 NIR 荧光探针 XZTU-Mito-Vis 用于精确监测脑中风氧化应激及早期诊断^[77]；(b)基于溶酶体的粘度激活型 NIR II 荧光探针 NP-V 用于肝 IRI 精准导航^[78]；(c)靶向脂滴的 NIR 荧光探针 A-01 用于评估白花丹素在预防 IRI 中的作用^[79]

激发态分子内质子转移机制,用于监测线粒体粘度变化。该探针在粘度升高时荧光增强 418 倍,发射波长位于 715 nm,且通过吡啶盐结构实现线粒体特异性靶向。在氧糖剥夺/再灌注及脑中动脉阻塞模型中,XZTU-Mito-Vis 准确捕捉到氧化应激引起的线粒体粘度上升,并验证了 apocynin 在抑制炎症因子(TNF- α 、IL-1 β)和减轻脑梗死中的神经保护作用。该探针兼具血脑屏障穿透能力与高分辨率成像性能,为中风早期诊断与治疗评估提供了新型分子工具。

在肝 IRI 研究中,Liu J 等人^[78]开发了一种粘度激活的 NIR-II 荧光探针——NP-V(见图 17(b)),用于精确导航肝 IRI。该探针通过增强结构刚性与引入柔性共轭键,实现在高粘度环境中荧光强度提升 13 倍,并具备良好的光稳定性和生物相容性。NP-V 特异性靶向溶酶体,在 HIRI 模型中成功监测到溶酶体粘度显著上升(2.9 倍),并进一步揭示了 ROS-MDA-组织蛋白酶 B 信号通路在介导粘度变化中的关键作用。在活体小鼠中,NP-V 实现了肝病灶区域的高信背比($SBR=3.7$)NIR-II 成像,并指导手术精准切除病变组织,对其有效性进行病理验证。该研究首次将溶酶体粘度确立为 HIRI 的可靠生物标志物,为术中导航与机制研究提供了新策略。

针对下肢 IRI,Ai Y 等^[79]设计了一种靶向脂滴的 NIR 探针——A-01(见图 17(c)),通过分子内电荷转移机制实现对极性变化的高灵敏度响应。该探针在极性增强时的发射波长红移达 140 nm,荧光强度下降 14 倍,且对粘度干扰不敏感。A-01 在 HeLa 细胞中特异性标记脂滴,并在 4 种 IR 模型中均检测到细胞极性下降,表明 IRI 导致脂滴微环境紊乱。进一步研究发现,低浓度铅黄精可显著缓解 IR 引起的极性变化与 ROS 升高,体现其保护作用。在小鼠下肢 IR 模型中,A-01 成功对极性动态变化进行成像,荧光信号在 IR 肢体中增强两倍,为天然药物在 IRI 防治中的评价提供了可视化

工具。

以上三项研究分别从肝、下肢与脑不同组织的 IRI 出发,开发了针对粘度与极性等物理微环境参数的 NIR 荧光探针,不仅实现了病灶区域的高对比度成像与精准干预,还深入揭示了氧化应激、脂代谢紊乱以及溶酶体功能障碍在 IRI 中的关键作用。这些探针为 IRI 的机制研究、早期诊断和药物评价提供了强有力的光学平台,展现出广阔的临床转化前景。

响应型 NIR 荧光探针通过特异性识别 IRI 过程中的关键生物分子(如 ROS/RNS、酶、气体信号分子等)及微环境参数(如 pH、粘度、极性),实现了对损伤进程的多维度、高时空分辨率动态成像。该类探针不仅深化了对 IRI 分子机制的理解,更在精准诊断、术中导航和治疗评估方面展现出显著优势。尽管在探针特异性、体内稳定性以及临床转化方面仍存在挑战,但随着分子设计与成像技术的持续创新,响应型 NIR 探针有望为 IRI 的精准诊疗提供更强大的技术支撑。

6 挑战与展望

尽管荧光探针技术在 IRI 的研究与诊疗应用领域取得了令人瞩目的进展,并展现出巨大的转化潜力,但我们必须清醒地认识到,从实验室的基础研究走向广泛的临床应用,仍有一段充满挑战的道路要走。

6.1 当前面临的主要挑战

6.1.1 探针的临床转化困境

目前,绝大多数报道的 IRI 荧光探针仍停留在细胞和啮齿类动物(小鼠、大鼠)模型验证阶段。将其推向临床应用面临多重障碍:

(1)生物安全性与毒性:探针组分(如金属配合物中的 Ir、Pd,有机染料及其代谢产物)的长期毒性、免疫原性、体内分布、代谢途径和清除机制尚未得到系统、全面的评估,这是临床转化的首要门槛。

(2)大型动物模型数据缺失:小鼠等小型动物模型在生理结构、代谢速率、组织穿透深度等方面与人类存在显著差异。缺乏在猪、犬

或非人灵长类等大型动物模型中的有效性和安全性验证数据,是转化路上的关键问题。

(3)监管审批路径不明确:荧光探针作为一种新型的体内诊断剂,其监管分类、审批流程及标准与传统药物或影像对比剂有所不同,需要与监管机构(如国家药品监督管理局、美国 FDA 等)进行早期沟通并建立相应的评价体系。

6.1.2 探针性能的优化空间

(1)特异性与交叉反应:尽管探针设计力求特异,但在复杂的体内微环境中,某些探针仍可能与结构相似的分子发生交叉反应,产生假阳性信号。例如,检测 H_2O_2 的硼酸酯类探针可能对其他过氧化物也有响应。

(2)稳定性和光漂白:一些有机荧光团在持续光照下容易发生光漂白,导致信号衰减,从而影响定量分析的准确性和长时间观测的可行性。

(3)定量分析能力有待提高:大多数探针提供的是“开启”或“增强”型的半定量信号,如何实现绝对定量,精确反映体内生物分子的真实浓度,仍然是一个挑战。

6.1.3 对 IRI 复杂性的认知局限

(1)标志物覆盖不全:当前探针主要集中于 ROS、RSS 和少数几种气体分子。然而,IRI 涉及众多其他关键过程,如特定炎症因子(IL-1 β 、IL-18)、细胞焦亡相关蛋白(GSDMD)、自噬流、内质网应激等,针对这些靶点的优异探针仍相对匮乏。

(2)多器官相互作用的可视化工具缺失:IRI 通常表现为一个全身性过程,单一器官的 IRI 可能会引发远端器官损伤(如肠 IRI 导致肺损伤)。目前缺乏能够同时、在体地研究多个器官间分子事件关联性的成像技术和探针。

6.2 未来发展方向与展望

为克服上述挑战,未来的研究应聚焦于以下几个前沿方向。

6.2.1 推进临床转化与实用化

(1)注重生物相容性设计:在探针分子设

计之初,就优先考虑使用生物相容性更好的材料,比如开发全有机、水溶性好的 NIR 染料,或利用已被批准临床使用的材料(如 ICG、某些纳米载体)构建探针平台。

(2)开展系统的临床前研究:严格按照药物开发规范,在大型动物 IRI 模型中验证探针的有效性,并完成全面的药代动力学、毒理学研究。

(3)探索临床适用场景:初期可瞄准术中导航等微创或开放场景,比如利用探针在器官移植手术中实时评估移植植物活力、在血栓切除术后判断脑组织或心肌的存活区域,从而实现其最初的临床价值。

6.2.2 开发高性能新型探针

(1)长波长与 NIR-II 探针:大力发展激发和发射波长位于 NIR-I 乃至 NIR-II 区的探针。NIR-II 成像具有更深的组织穿透深度、更低的自发荧光和更高的空间分辨率,是活体成像的未来趋势。

(2)比率型与自校准探针:大力发展比率型探针,其通过测量两个不同波长的荧光强度比值进行定量,能有效消除探针浓度分布不均、光照强度波动等环境因素的影响,显著提高定量准确性和可靠性。

(3)可激活型智能探针:设计由多重生物信号(如 ROS+pH,或酶活性+粘度)共同激活的“AND”逻辑门探针。这类探针只有在 IRI 特定微环境下多个条件同时满足时才会发出强信号,可极大提高检测的特异性和精准度,减少假阳性干扰的可能性。

6.2.3 拓展多模式成像与技术融合

(1)多模式成像探针:开发将荧光成像与其它临床成熟影像技术(如磁共振成像 MRI、计算机断层扫描 CT、超声成像、光声成像 PA)相结合的探针。例如, Ye M 等人在 2022 年开发的 UCL 纳米系统,本质上就是一种融合了上转换发光和潜在光声成像能力的平台。这种融合可以结合荧光的高灵敏度与其它模式的高穿透深度、解剖结构清晰等优点,实现对

IRI 从分子到解剖水平的全面评估。

(2)与人工智能结合:利用人工智能和深度学习算法对复杂的荧光成像数据进行自动分析、分割和量化,挖掘人眼难以识别的特征模式,从而实现 IRI 的早期诊断、分型、预后预测和疗效评估的自动化与精准化。

6.2.4 深化对 IRI 机制的研究

(1)开发新型标志物探针:针对铁死亡、细胞焦亡、NETosis 等新型细胞死亡通路中的关键分子事件,开发特异性探针,以可视化这些过程在 IRI 中的时空动态,为开发全新靶点提供工具。

(2)多器官在体动态监测系统:利用植入式光纤或可穿戴荧光成像设备,结合高特异性探针,实现对自由活动动物多个器官内分子事件的长期、连续动态监测,从而揭示 IRI 的全身性病理生理网络。

7 结论

NIR 荧光探针作为一把强大的“光学手术刀”,正在深刻改变我们对 IRI 的认识方式。通过非响应性探针,我们能够精准勾勒损伤的解剖范围;通过响应性探针,我们得以窥见 IRI 内在的分子风暴。从非靶向到靶向,从单一响应到多重响应,从 NIR-I 到 NIR-II,探针技术的每一次进步都为我们理解和管理 IRI 提供了更敏锐的洞察力。尽管前路依然充满挑战,但随着化学、生物学、材料科学与医学的深度融合,我们有理由相信,性能更优异、更智能的 NIR 荧光探针必将在不久的将来,在 IRI 的临床精准诊断和个性化治疗中扮演不可或缺的角色。

参考文献

- [1] ELTZSCHIG H K, ECKLE T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation [J]. *Nature Medicine*, 2011, **17**(11): 1391–1401.
- [2] KALOGERIS T, BAINES C P, KRENZ M, et al. Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury [M]//International Review of Cell and Molecular Biology: Volume 298. Amsterdam: Elsevier, 2012: 229–317.
- [3] YELLON D M, HAUSENLOY D J. Myocardial Reperfusion Injury [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2007, **357**(11): 1121–1135.
- [4] HONG G, ANTARIS A L, DAI H. Near-infrared fluorophores for biomedical imaging [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2017, **1**(1): 0010.
- [5] CHEN Y, WANG S, ZHANG F. Near-infrared luminescence high-contrast in vivo biomedical imaging [J]. *Nature Reviews Bioengineering*, 2023, **1**(1): 60–78.
- [6] VANDER HEIDEN M G, CANTLEY L C, THOMPSON C B. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation [J]. *Science*, 2009, **324**(5930): 1029–1033.
- [7] LEAF A. Cell Swelling: A Factor in Ischemic Tissue Injury [J]. *Circulation*, 1973, **48**(3): 455–458.
- [8] BLAUSTEIN M P, LEDERER W J. Sodium/Calcium Exchange: Its Physiological Implications [J]. *Physiological Reviews*, 1999, **79**(3): 763–854.
- [9] MURPHY E, STEENBERGEN C. Mechanisms Underlying Acute Protection From Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury [J]. *Physiological Reviews*, 2008, **88**(2): 581–609.
- [10] PERRELLI M G. Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: Role of mitochondria and reactive oxygen species [J]. *World Journal of Cardiology*, 2011, **3**(6): 186.
- [11] ARMSTRONG P W, BODEN W E. Reperfusion Paradox in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction [J]. *Annals of Internal Medicine*, 2011, **155**(6): 389–391.
- [12] SANDERSON T H, REYNOLDS C A, KUMAR R, et al. Molecular Mechanisms of Ischemia – Reperfusion Injury in Brain: Pivotal Role of the Mitochondrial Membrane Potential in Reactive Oxygen Species Generation [J]. *Molecular Neurobiology*, 2013, **47**(1): 9–23.
- [13] JUAN C A, PÉREZ DE LA LASTRA J M, INFRARED (MONTHLY)/VOL.46, NO.11, NOV 2025

- PLOU F J, et al. The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22** (9): 4642.
- [14] OYINLOYE B E, ADENOWO A F, KAPPO A P. Reactive Oxygen Species, Apoptosis, Antimicrobial Peptides and Human Inflammatory Diseases [J]. *Pharmaceuticals*, 2015, **8**(2): 151–175.
- [15] MORGAN M J, LIU Z gang. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling [J]. *Cell Research*, 2011, **21**(1): 103–115.
- [16] MONSON K M, DOWLATSHAHI S, CROCKETT E T. CXC-chemokine regulation and neutrophil trafficking in hepatic ischemia-reperfusion injury in P-selectin/ICAM-1 deficient mice [J]. *Journal of Inflammation*, 2007, **4**: 11.
- [17] AKHTAR A M, SCHNEIDER J E, CHAPMAN S J, et al. In Vivo Quantification of Vcam-1 Expression in Renal Ischemia Reperfusion Injury Using Non-Invasive Magnetic Resonance Molecular Imaging [J]. *PLoS ONE*, 2010, **5**(9): e12800.
- [18] ZHONG Y L, ZHANG J J, LI S T. Calcium homeostasis and its dysregulation in ischemia-reperfusion injury: A study [J]. *MEDS Basic Medicine*, 2024, **2**(2): 1–6.
- [19] RAHI V, KAUNDAL R K. Exploring the intricacies of calcium dysregulation in ischemic stroke: Insights into neuronal cell death and therapeutic strategies [J]. *Life Sciences*, 2024, **347**: 122651.
- [20] SPERRING C P, SAVAGE W M, ARGENZIANO M G, et al. No-Reflow Post-Recanalization in Acute Ischemic Stroke: Mechanisms, Measurements, and Molecular Markers [J]. *Stroke*, 2023, **54**(9): 2472–2480.
- [21] ZHANG Y, JIANG M, GAO Y, et al. "No-reflow" phenomenon in acute ischemic stroke [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2024, **44**(1): 19–37.
- [22] LIU Y, LI X, SUN T, et al. Pyroptosis in myocardial ischemia/reperfusion and its therapeutic implications [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2024, **971**: 176464.
- [23] LUAN X, CHEN P, MIAO L, et al. Ferroptosis in organ ischemia-reperfusion injuries: recent advancements and strategies [J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2025, **480**(1): 19–41.
- [24] LI F J, LONG H Z, ZHOU Z W, et al. System Xc-/GSH/GPX4 axis: An important antioxidant system for the ferroptosis in drug-resistant solid tumor therapy [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, **13**: 910292.
- [25] ZHANG Y, JIANG M, WANG T. Reactive oxygen species (ROS)-responsive biomaterials for treating myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2024, **12**: 1469393.
- [26] ZENG J, LIU M, YANG T, et al. A single mitochondria-targetable fluorescent probe for visualizing cysteine and glutathione in ferroptosis of myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Talanta*, 2024, **270**: 125610.
- [27] WANG Y, HONG F, YANG S. Roles of Nitric Oxide in Brain Ischemia and Reperfusion [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, **23**(8): 4243.
- [28] LI Z, TAKEUCHI K, ARIYOSHI Y, et al. Carbon Monoxide as a Molecular Modulator of Ischemia-Reperfusion Injury: New Insights for Translational Application in Organ Transplantation [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, **26**(16): 7825.
- [29] HUANG X L, LIU Y, ZHOU J L, et al. Role of Sulfur Dioxide in Acute Lung Injury Following Limb Ischemia/Reperfusion in Rats [J]. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2013, **27**(8): 389–397.
- [30] LEMASTERS J J, BOND J M, CHACON E, et al. The pH paradox in ischemia-reperfusion injury to cardiac myocytes [M]//KARMAZYN M. Myocardial Ischemia: Mechanisms, Reperfusion, Protection. Basel: Birkhäuser, 1996: 99–114.
- [31] PENG H, JING X, HAN S, et al. Detecting viscosity changes in the limb ischemia-reperfusion in

- mice with a near-infrared fluorescence probe [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2024, **1311**: 342733.
- [32] BUGGER H, PFEIL K. Mitochondrial ROS in myocardial ischemia reperfusion and remodeling [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 2020, **1866**(7): 165768.
- [33] YANG M, LIU B, CHEN B, et al. Cerebral ischemia-reperfusion injury: mechanisms and promising therapies [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2025, **16**: 1613464.
- [34] GOTTLIEB R A. Cytochrome P450: major player in reperfusion injury [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2003, **420**(2): 262–267.
- [35] REFAAT A, YAP M L, PIETERSZ G, et al. In vivo fluorescence imaging: success in preclinical imaging paves the way for clinical applications [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, **20**(1): 450.
- [36] MA L, GUO H, ZHAO Y, et al. Liquid biopsy in cancer: current status, challenges and future prospects [J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2024, **9**(1): 336.
- [37] KOBAYASHI H, OGAWA M, ALFORD R, et al. New Strategies for Fluorescent Probe Design in Medical Diagnostic Imaging [J]. *Chemical Reviews*, 2010, **110**(5): 2620–2640.
- [38] CHEN C, TIAN R, ZENG Y, et al. Activatable Fluorescence Probes for “Turn-On” and Ratiometric Biosensing and Bioimaging: From NIR-I to NIR-II [J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2020, **31**(2): 276–292.
- [39] WU J. The Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect: The Significance of the Concept and Methods to Enhance Its Application [J]. *Journal of Personalized Medicine*, 2021, **11**(8): 771.
- [40] GUO M, HE Z, JIN Z, et al. Oral nanoparticles containing naringenin suppress atherosclerotic progression by targeting delivery to plaque macrophages [J]. *Nano Research*, 2023, **16**(1): 925–937.
- [41] MA X L, LEFER D J, LEFER A M, et al. Coronary endothelial and cardiac protective effects of a monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule-1 in myocardial ischemia and reperfusion [J]. *Circulation*, 1992, **86**(3): 937–946.
- [42] SOFIAS A M, BJØRKØY G, OCHANDO J, et al. Cyclic Arginine-Glycine-Aspartate-Decorated Lipid Nanoparticle Targeting toward Inflammatory Lesions Involves Hitchhiking with Phagocytes [J]. *Advanced Science*, 2021, **8**(13): 2100370.
- [43] GUO M R, HE Z S, JIN Z H, et al. Oral nanoparticles containing naringenin suppress atherosclerotic progression by targeting delivery to plaque macrophages [J]. *Nano Research*, 2023, **16**: 925–937.
- [44] DOU K, HUANG W, XIANG Y, et al. Design of Activatable NIR-II Molecular Probe for In Vivo Elucidation of Disease-Related Viscosity Variations [J]. *Analytical Chemistry*, 2020, **92**(6): 4177–4181.
- [45] PENG G, DAI J, ZHOU R, et al. Highly Efficient Red/NIR-Emissive Fluorescent Probe with Polarity-Sensitive Character for Visualizing Cellular Lipid Droplets and Determining Their Polarity [J]. *Analytical Chemistry*, 2022, **94**(35): 12095–12102.
- [46] JI J J, CHEN S Y, YANG Z W, et al. Delivery of Mir-196c-3p with NIR-II light-triggered gel attenuates cardiomyocyte ferroptosis in cardiac ischemia-reperfusion injury [J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2023, **47**: 102618.
- [47] GONG X T, XIE W, CAO J J, et al. NIR-emitting semiconducting polymer nanoparticles for in vivo two-photon vascular imaging [J]. *Biomaterials Science*, 2020, **8**(9): 2666–2672.
- [48] BIAN H, MA D, ZHANG X, et al. Bright, Robust and Readily Accessible Fluorophore Family for NIR-II Bioimaging [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2025, **147**(43): 39936–39952.
- [49] YI S, HU Q, CHI Y, et al. Bright and Renal-Clearable Au Nanoclusters with NIR-II Excitation and Emission for High-Resolution Fluorescence Imaging of Kidney Dysfunction [J]. *ACS Materials Letters*, 2023, **5**(8): 2164–2173.

- [50] YAO C, CHEN Y, ZHAO M, et al. A Bright, Renal-Clearable NIR-II Brush Macromolecular Probe with Long Blood Circulation Time for Kidney Disease Bioimaging [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, **61**(5): e202114273.
- [51] LI B, ZHAO M, FENG L, et al. Organic NIR-II molecule with long blood half-life for in vivo dynamic vascular imaging [J]. *Nature Communications*, 2020, **11**(1): 3102.
- [52] JIA Q, LI Z, BAI M, et al. Estimating dynamic vascular perfusion based on Er-based lanthanide nanoprobes with enhanced down-conversion emission beyond 1500 nm [J]. *Theranostics*, 2021, **11**(20): 9859–9872.
- [53] YANG W, WANG Y, FU C, et al. Quantitative visualization of myocardial ischemia-reperfusion-induced cardiac lesions via ferroptosis magnetic particle imaging [J]. *Theranostics*, 2024, **14**(3): 1081–1097.
- [54] SYEDA M Z, SU G, LI Y, et al. Platelet-hitchhiking triiodothyronine nanoparticles for enhanced therapy of cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2025, **700**: 138290.
- [55] SUN B, FANG D, LI W, et al. NIR-II nanoprobes for investigating the glymphatic system function under anesthesia and stroke injury [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2024, **22**(1): 200.
- [56] HE X, LI Z, YE M, et al. Near-infrared laser-irradiated upconversion nanoparticles with dexamethasone precise released for alleviating lung ischemia-reperfusion injury [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, **11**: 1176369.
- [57] LI C, DU J, JIANG G, et al. White-light activatable organic NIR-II luminescence nanomaterials for imaging-guided surgery [J]. *Nature Communications*, 2024, **15**(1): 5832.
- [58] ZHU D, ZHANG H, LI J, et al. Liposome - Mediated Biomimetic Delivery of PLK3 Inhibitor with NIR II-Triggered Release Prevents Renal Ischemia-Reperfusion Injury [J]. *Advanced Therapeutics*, 2022, **5**(12): 2200087.
- [59] JI A, LOU H, LI J, et al. NIR-II fluorescence imaging without intended excitation light [J]. *Chemical Science*, 2024, **15**(9): 3339–3348.
- [60] SHANG J, YANG Y, SUN Y, et al. Real-time monitoring of ONOO⁻ in cerebral ischemia-reperfusion injury mouse models using a hydrazine-based NIR fluorescent probe [J]. *Redox Biology*, 2025, **80**: 103494.
- [61] XIE C, FENG Y A, XU L Z, et al. An activatable NIR-I superoxide anion fluorescent probe selective for tracking cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2026, **344**: 126674.
- [62] XU L, WANG X, HUANG L, et al. Molecular Engineering of 2',7'-Dichlorofluorescein to Unlock Efficient Superoxide Anion NIR-II Fluorescent Imaging and Tumor Photothermal Therapy [J]. *Small*, 2025, **21**(7): 2407918.
- [63] ZENG C, TAN Y, SUN L, et al. Renal-Clearable Probe with Water Solubility and Photostability for Biomarker-Activatable Detection of Acute Kidney Injuries via NIR-II Fluorescence and Optoacoustic Imaging [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2023, **15**(14): 17664–17674.
- [64] XIE X, YANG X, WU T, et al. Rational Design of an α -Ketoamide-Based Near-Infrared Fluorescent Probe Specific for Hydrogen Peroxide in Living Systems [J]. *Analytical Chemistry*, 2016, **88**(16): 8019–8025.
- [65] SONG D, LI C, ZHU M, et al. Tracking Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in Real Time with a Reversible NIR-IIb Fluorescent Redox Probe [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, **61**(44): e202212721.
- [66] CHEN J, CHEN L, WU Y, et al. A H₂O₂-activatable nanoprobe for diagnosing interstitial cystitis and liver ischemia-reperfusion injury via multispectral optoacoustic tomography and NIR-II fluorescent imaging [J]. *Nature Communications*, 2021, **12**(1): 6870.

- [67] LUO X, ZHANG C, YUE C, et al. A near-infrared light-activated nanoprobe for simultaneous detection of hydrogen polysulfide and sulfur dioxide in myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Chemical Science*, 2023, **14** (48): 14290–14301.
- [68] JIANG L, LIU C, WANG W, et al. A novel NIR iridium(III) complex-based probe for accurate imaging of mitochondrial biothiols in ferroptosis-mediated lung ischemia-reperfusion injury [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2025, **1373**: 344500.
- [69] YANG Y, ZHOU T, JIN M, et al. Thiol - Chromene "Click" Reaction Triggered Self-Immolative for NIR Visualization of Thiol Flux in Physiology and Pathology of Living Cells and Mice [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, **142**(3): 1614–1620.
- [70] YANG Y, MA M, SHEN L, et al. A Fluorescent Probe for Investigating the Role of Biothiols in Signaling Pathways Associated with Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, **62** (40): e202310408.
- [71] YE M, TAN Q, JIANG D, et al. Deep-Depth Imaging of Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury Using a Carbon Monoxide-Activated Upconversion Luminescence Nanosystem [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2022, **14** (47): 52659–52669.
- [72] XIONG S, LIANG W, CHEN X, et al. Tracking hepatic ischemia-reperfusion injury in situ by a fluorogenic probe [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2025, **441**: 138012.
- [73] HONG S J, LEE H, LEE E J, et al. In Vivo Monitoring of Hepatic Ischemia Using a Dual-Enzyme Activated Near-Infrared Fluorescence Probe [J]. *ACS Sensors*, 2025, **10**(8): 6074–6083.
- [74] ZHANG Y, ZHAO W, CHEN Y, et al. Rational construction of a reversible arylazo-based NIR probe for cycling hypoxia imaging in vivo [J]. *Nature Communications*, 2021, **12**(1): 2772.
- [75] CHENG Y, CHENG A, JIA Y, et al. pH-Responsive Multifunctional Theranostic Rapamycin-Loaded Nanoparticles for Imaging and Treatment of Acute Ischemic Stroke [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2021, **13** (48): 56909–56922.
- [76] YAO S, HE C, YUAN P, et al. Real-Time Objective Evaluation of the Ischemic Stroke through pH-Responsive Fluorescence Imaging [J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2023, **12**(9): 2201981.
- [77] HU W, WANG C, CHEN X, et al. Mitochondrial viscosity detection using a large stokes shift near-infrared fluorescent probe: An innovative tool for precise monitoring of oxidative stress in stroke and early diagnosis [J]. *Bioorganic Chemistry*, 2025, **163**: 108710.
- [78] LIU J, ZHANG W, ZHOU C, et al. Precision Navigation of Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury Guided by Lysosomal Viscosity-Activatable NIR-II Fluorescence [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2022, **144**(30): 13586–13599.
- [79] AI Y, SONG W, KOSTYUKOV A A, et al. Fluorescent probe for evaluating the preventive utility of plumbagin in ischemia-reperfusion injury [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2024, **454**: 115723.