

РЕДОКС-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ БИОВИЗУАЛИЗАЦИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

DOI: 10.17691/stm2025.17.1.05

УДК 616-006.6:004.89:535

Поступила 25.11.2024 г.

**А. Пельтек**, младший научный сотрудник физического факультета;**Е.А. Кополева**, инженер физического факультета;**М.В. Зюзин**, д.ф.-м.н., ведущий научный сотрудникНациональный исследовательский университет ИТМО, Кронверкский проспект, 49, лит. А,
Санкт-Петербург, 197101

Использование флуоресцентных редокс-чувствительных наночастиц в современной биомедицине обеспечивает высокую чувствительность и точность в биовизуализации. Наночастицы интересны тем, что способны долго циркулировать в крови, где уровень глутатиона относительно низкий, и разрушаться в клетках опухоли, высвобождая загруженные красители или лекарства.

Цель исследования — разработка новых наночастиц на основе тритиоциануровой кислоты для биовизуализации злокачественных новообразований и изучение их возможностей.

Материалы и методы. Наночастицы были получены путем поликонденсации тритиоциануровой кислоты с помощью йода. Для их характеристики использовали сканирующую и просвечивающую электронную микроскопию, загрузку флуоресцентных красителей оценивали спектрофотометрически. Влияние наночастиц на жизнеспособность клеточных линий 4T1 и A549, а также взаимодействие их с клетками изучали с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. Распределение наночастиц в тканях и органах модельных мышей BALB/c с привитой опухолью проводили методом флуоресцентной визуализации.

Результаты. Размер синтезированных частиц, по данным сканирующей микроскопии, составил 100 ± 20 нм. Изотерма адсорбции показала, что возможно достижение адсорбции 0,27 мг флуоресцентного красителя RhB на 1 мг наночастиц. Продемонстрировано усиленное высвобождение запакowanego флуоресцентного красителя в присутствии глутатиона и ацетилцистеина. Частицы не оказали значимого влияния на жизнеспособность клеток 4T1 и A549. После интратуморального введения они обеспечили более интенсивный флуоресцентный сигнал в зоне опухоли по сравнению с простым раствором флуоресцентного красителя.

Заключение. Разработанная система наночастиц на основе тритиоциануровой кислоты продемонстрировала высокую эффективность для применения в биовизуализации злокачественных новообразований и потенциально — в целевой доставке терапевтических агентов.

Ключевые слова: редокс-чувствительные наночастицы; биовизуализация; тритиоциануровая кислота.

Как цитировать: Peltek O., Kopoleva E.A., Zyuzin M.V. Redox-sensitive fluorescent nanoparticles for biovisualization of malignant tumors. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2025; 17(1): 50, <https://doi.org/10.17691/stm2025.17.1.05>

English

Redox-Sensitive Fluorescent Nanoparticles for Biovisualization of Malignant Tumors

O. Peltek, Junior Researcher, Physics Department;**E.A. Kopoleva**, Engineer, Physics Department;**M.V. Zyuzin**, DSc, Leading Researcher

ITMO University, 49, Bldg. A, Kronverksky Pr., Saint Petersburg, 197101, Russia

Application of fluorescent redox-sensitive nanoparticles in current biomedicine ensures high sensitivity and accuracy of biovisualization. Nanoparticles are potent as they can long circulate in the blood, where the level of glutathione is relatively low, and are destroyed in tumor cells, releasing loaded dyes or drugs.

Для контактов: Пельтек Алексей, e-mail: peltek.oleksii@gmail.com

The aim of the study was to develop new nanoparticles based on trithiocyanuric acid for biovisualization of malignant tumors and study capabilities of the developed nanoparticles.

Materials and Methods. Nanoparticles were obtained by polycondensation of trithiocyanuric acid using iodine. Scanning and transmission electron microscopy was used for their characterization, the loading of fluorescent dyes was assessed by means of spectrophotometry. Confocal laser scanning microscopy was applied to study the impact of nanoparticles on the viability of the 4T1 and A549 cell lines as well as their interaction with cells. The distribution of nanoparticles in tissues and organs of BALB/c model mice with grafted tumors was performed using fluorescence visualization.

Results. According to scanning microscopy, the size of the synthesized particles reached 100 ± 20 nm. The adsorption isotherm demonstrated that adsorption of 0.27 mg of the RhB fluorescent dye per 1 mg of nanoparticles could be achieved. Enhanced release of the packed fluorescent dye was seen in the presence of glutathione and acetylcysteine. The particles did not significantly affect the viability of 4T1 and A549 cells. After intratumoral administration, they ensured a more intense fluorescent signal in the tumor area compared to a regular fluorescent dye solution.

Conclusion. The developed system of trithiocyanuric-acid-based nanoparticles demonstrated high efficiency in biovisualization of malignant tumors and has a potential for targeted delivery of treatment agents.

Key words: redox-sensitive nanoparticles; biovisualization; trithiocyanuric acid.

Введение

Флуоресцентные наночастицы занимают важное место в современной биомедицине благодаря своей способности обеспечивать высокую чувствительность и точность в биовизуализации [1]. Они активно применяются для изучения клеточных структур [2], отслеживания биомолекул [3], доставки лекарств [4, 5] и диагностики опухолей [6]. Особое значение использование наночастиц приобретает при биовизуализации опухолевых тканей. Они могут определять границы опухолей во время хирургических вмешательств, что позволяет хирургу более точно удалять опухолевую ткань, минимизируя повреждения здоровых участков [7–9]. Для более эффективной реализации этой задачи важно, чтобы наночастицы обладали селективностью к опухолевым тканям и удерживались в них продолжительное время [10].

На сегодняшний день в биовизуализации применяются различные типы наночастиц, включая квантовые точки [11], золотые наночастицы [12], магнитные наночастицы на основе оксида железа [13], углеродные точки [14] и наночастицы редкоземельных элементов [15]. Помимо них особый интерес представляют органические наночастицы, которые могут быть функционализированы флуоресцентными красителями ближнего инфракрасного диапазона [16]. Среди органических наночастиц значительно меньше исследованы редокс-чувствительные системы, которые обладают уникальными преимуществами.

Редокс-чувствительные наночастицы интересны тем, что способны долго циркулировать в крови, где уровень глутатиона относительно низкий, и разрушаться в клетках опухоли, высвобождая загруженные красители или лекарства [17]. Такое свойство позволяет использовать эти частицы для целевой доставки терапевтических агентов и для усиленной визуализации опухолевых клеток. Тем не менее, несмотря на перспективность применения, количество исследований, направленных на изучение редокс-

чувствительных наночастиц для биовизуализации, остается ограниченным.

Для разработки таких наночастиц с улучшенными свойствами большое значение имеет исследование новых материалов, обладающих уникальной химической структурой и функциональностью. В настоящей работе в качестве основы для создания наночастиц выбрана тритиоциануровая кислота (ТТЦК). Ее структура включает дисульфидные группы, что обеспечивает редокс-чувствительность, а также позволяет создавать стабильные органические наночастицы. На сегодняшний день ТТЦК еще не использовалась при создании наночастиц для биовизуализации.

Цель исследования — синтез, характеристика и изучение действия наночастиц на основе ТТЦК.

Оценены способность наночастиц удерживать и высвобождать флуоресцентные агенты, а также возможности их накопления в опухолевых тканях.

Данное исследование призвано способствовать расширению знаний о применении новых материалов в биомедицине, что открывает перспективы создания более эффективных систем для диагностики и терапии опухолей.

Материалы и методы

Синтез наночастиц. Для синтеза наночастиц использовали следующие реактивы производства Sigma-Aldrich, США без дополнительной очистки: гидрат ТТЦК натриевой соли (98%), полиэтиленгликоль диглицидиловый эфир (ПЭГДЭ, %), йод (I_2 , 99%) и йодид натрия (NaI).

Сначала приготавливали 0,155 М раствор I_2 в 0,3875 М водном растворе NaI, обеспечивая молярное соотношение I_2 :NaI, равное 1:2,5. Затем 345 мкл 0,155 М раствора ПЭГДЭ смешивали с 60 мкл свежеприготовленного 2 М раствора ТТЦК и к полученному раствору добавляли 2107 мкл деионизированной воды. Раствор перемешивали в течение 10 мин. Заранее приготовленный 0,155 М раствор I_2

в растворе NaI добавляли к раствору ТТЦК порциями (всего 5 порций) с интервалом 10 с при интенсивном перемешивании (700 об./мин). После дополнительного перемешивания в течение 10 мин новая смесь приобретала бледно-белый цвет. На этом процесс синтеза завершался, а полученные наночастицы центрифугировали при 14 000 об./мин в течение 5 мин и промывали дважды водой.

Характеризация наночастиц. Гидродинамический радиус синтезированных наночастиц был определен с использованием анализатора Zetasizer Nano ZS90 (Malvern, США), оснащенного He-Ne-лазером мощностью 4,0 мВт и с длиной волны 633 нм. Для проведения измерений 100 мкл синтезированного раствора наночастиц разводили в 1 мл деионизированной воды, после чего измерения проводили в кюветках объемом 40 мкл.

Синтезированные наночастицы ТТЦК были исследованы методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), выполненной на сканирующем электронном микроскопе TESCAN MIRA 3 (Tescan, Чехия) с ускоряющим напряжением 0,5–30,0 кэВ. За день до измерений 2 мкл суспензии наночастиц ТТЦК в воде наносили на кремниевую подложку и оставляли до полного высыхания.

С помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) получены изображения наночастиц с использованием микроскопа Tescan G2 F20 X-TWIN (FEI, Нидерланды), оснащенного CCD-камерой Gatan Orius (Gatan Inc., США). Измерения проводили в режиме светлого поля при ускоряющем напряжении 200 кВ.

Загрузка флуоресцентного красителя. В качестве модельного флуоресцентного красителя использовали родамин Б (RhB). Для адсорбции красителя 0,75 мг наночастиц ТТЦК смешивали с 100 мкл водного раствора красителя с различной концентрацией (0,25; 0,50; 0,75; 1,0) и разводили водой до объема 1 мл. Затем полученные растворы перемешивали в течение 30 мин и центрифугировали в течение 5 мин при 14 000 об./мин. Остаточный супернатант, содержащий неадсорбированный краситель RhB, измеряли спектрофотометрически при длине волны 552 нм. Для расчета количества (в процентах) адсорбированного красителя RhB использовали абсорбцию супернатанта чистых наночастиц ТТЦК в качестве фона.

Для оценки десорбции и высвобождения загруженного флуоресцентного красителя в разных растворах 0,5 мг наночастиц ТТЦК с адсорбированным RhB разводили отдельно в 1 мл воды, диметилсульфида (ДМСО), 95% этилового спирта, 250 мМ ацетилцистеина или 250 мМ глутатиона и перемешивали в течение 60 мин. Затем наночастицы центрифугировали в течение 5 мин при 14 000 об./мин. Количество красителя RhB, высвобожденного из наночастиц в супернатант, определяли спектрофотометрически по его по-

глощению при длине волны 552 нм. Для расчета количества (в процентах) высвобожденного RhB использовали абсорбцию супернатанта наночастиц ТТЦК, инкубированных в соответствующем растворе, в качестве фона.

Оценка влияния наночастиц на жизнеспособность клеток. Для оценки влияния наночастиц ТТЦК на жизнеспособность клеточных культур 4Т1 и А549 клетки высевали в 96-луночные планшеты в количестве $5,0 \cdot 10^5$ клеток на лунку. Через два дня к клеткам добавляли наночастицы ТТЦК в конечных концентрациях 0,25; 0,5; 1; 2 и 4 мг/мл (в 200 мкл среды). Затем клетки инкубировали на протяжении 48 ч. По истечении этого времени живые клетки окрашивали витальным красителем Calcein-AM. Образцы дважды промывали буферным раствором PBS, после чего добавляли 10 мМ раствор Calcein-AM в 200 мкл PBS. Через 15 мин окрашенные клетки визуализировали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа Zeiss LSM 710 (Carl Zeiss, Германия). Изображения получали с использованием объектива с увеличением 10.

Оценка ассоциации наночастиц с клетками. Для визуализации взаимодействия наночастиц ТТЦК с клетками 4Т1 и А549 эти клетки высевали на чашки Петри для конфокальной микроскопии ($d=35$ мм; Eppendorf, Германия) в количестве $5,0 \cdot 10^5$ клеток на чашку. На следующий день к клеткам добавляли наночастицы ТТЦК с загруженным флуоресцентным красителем RhB в конечных концентрациях 0,25; 0,5; 1; 2 и 4 мг/мл в 2 мл клеточной среды, после чего клетки оставляли на ночь. На следующий день клетки дважды промывали раствором PBS, затем добавляли 2 мл раствора формалина и помещали в холодильник на 30 мин. После этого образцы снова промывали PBS и инкубировали 15 мин в растворе 0,1% Triton X-100 в PBS. Для окрашивания клеток использовали 10 мМ раствор флуоресцеина, который добавляли вместе с 1,5 мл PBS к образцам. Через 15 мин клетки визуализировали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа Zeiss LSM 710 (Carl Zeiss, Германия). Изображения были получены с использованием объективов с увеличением 10 и 40.

Оценка визуализации злокачественных новообразований с помощью наночастиц. Для создания модельной патологии были использованы клетки мышечной карциномы молочной железы 4Т1 (CRL-2539). Клетки были трипсинизированы, затем дважды промыты охлажденным PBS и ресуспендированы в PBS до концентрации $1 \cdot 10^6$ кл./мл. После этого клетки были введены подкожно (50 мкл с концентрацией $1 \cdot 10^6$ кл./мл) в область ноги мышей BALB/c. Через семь дней после формирования опухоли животных с опухолью достаточного размера (примерно $0,05 \pm 0,01$ см³) использовали для дальнейших экспериментов.

Биораспределение наночастиц ТТЦК оценивали

методом флуоресцентной визуализации с использованием системы IVIS Lumina II (PerkinElmer Inc., США). Система была настроена на режим эпифлуоресценции с длинами волн возбуждения и эмиссии 640 и 690 нм соответственно. Затем модельным животным непосредственно в опухоль был введен либо свободный краситель Су5.5, либо наночастицы ТТЦК с загруженным красителем Су5.5 (50 мкл). Обе инъекции содержали одинаковую концентрацию Су5.5 (50 мкг/мл или 2,5 мкг на инъекцию). Через 6 ч после введения проводили эвтаназию мышей, что позволило детектировать и зарегистрировать флуоресцентные сигналы из основных органов (сердца, печени, селезенки, легких, почек) и опухоли.

Результаты

Оценка размеров и морфологии полученных наночастиц. Полученные наночастицы ТТЦК были охарактеризованы с помощью метода динамического светорассеяния, СЭМ и ПЭМ (рис. 1).

Гидродинамический диаметр синтезированных наночастиц составил 120 ± 20 нм. Размер их, согласно СЭМ, составил 100 ± 20 нм.

Оценка загрузки флуоресцентного красителя. Изотерма адсорбции показала, что есть возможность достичь адсорбции 0,27 мг флуоресцентного красителя RhB на 1 мг наночастиц. При концентрации RhB 1 мг/мл приблизительно 25% RhB из раствора было адсорбировано. Однако в случае превышения такой концентрации частицы начинали агрегировать, поэтому при повышенных значениях адсорбция не была оценена (рис. 2, а). Во всех последующих экспериментах использовали наночастицы, у которых 0,2 мг красителя RhB было адсорбировано на 1 мг наночастиц ТТЦК.

Оценивали также десорбцию красителя RhB из наночастиц ТТЦК, инкубированных в различных растворителях, в том числе и в растворах ацетилцистеина и глутатиона — 77,1 и 89,2% соответственно (рис. 2, б). Такие значения обусловлены деградацией наночастиц в результате разрыва дисульфидных связей в присутствии

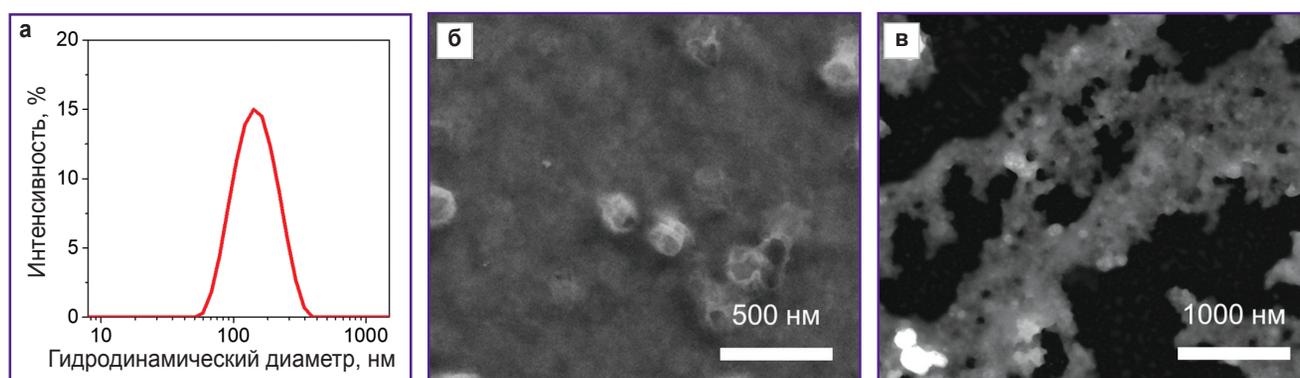


Рис. 1. Свойства полученных ТТЦК:

а — гидродинамический диаметр; б — сканирующая электронная микроскопия; в — просвечивающая электронная микроскопия

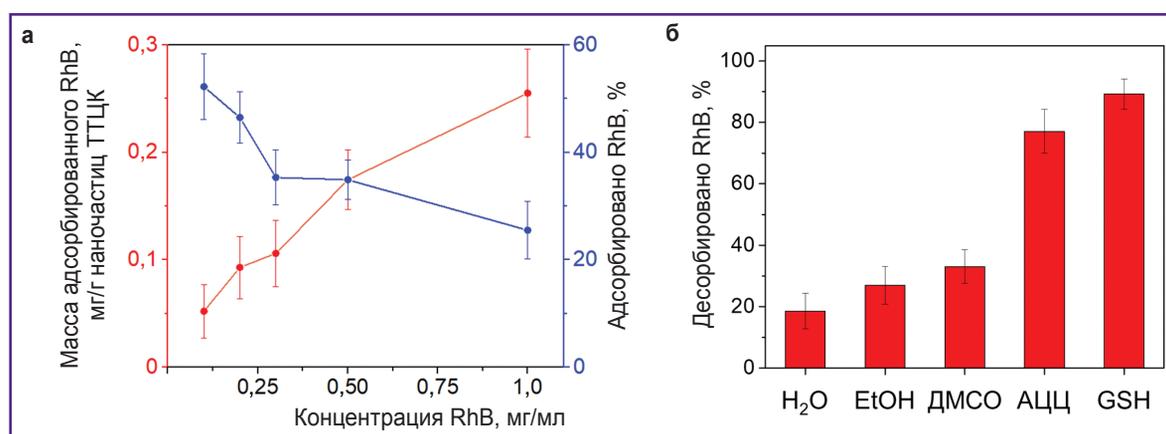


Рис. 2. Загрузка и высвобождение флуоресцентного красителя:

а — масса и процент адсорбированного красителя RhB в зависимости от начальной концентрации в растворе; б — высвобождение красителя RhB из наночастиц ТТЦК в различных растворителях. EtOH — этиловый спирт, DMCO — диметилсульфоксид, АЦЦ — ацетилцистеин, GSH — глутатион

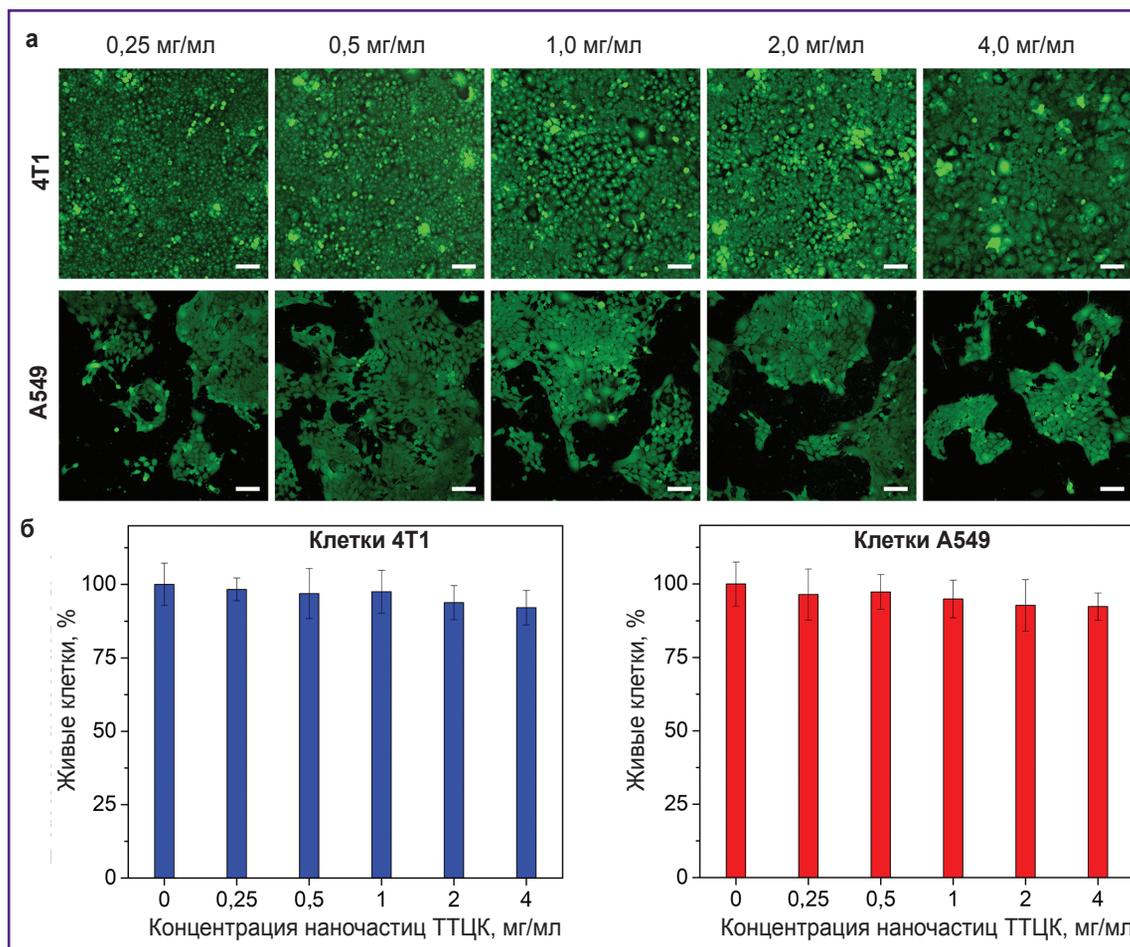


Рис. 3. Влияние наночастиц ТТЦК на жизнеспособность клеток 4T1 и A549:

а — изображения клеток, окрашенных витальным красителем Calcein-AM, полученные с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии; бар — 50 мкм; **б** — количественная оценка влияния наночастиц на жизнеспособность клеток

ацетилцистеина и глутатиона. Стоит отметить, что присутствие глутатиона или ацетилцистеина вызывает ускоренное высвобождение красителя в отличие от воды, спирта или ДМСО, при которых десорбция происходит постепенно в течение 60 мин.

Влияние наночастиц на жизнеспособность опухолевых клеток. Оценка влияния наночастиц на жизнеспособность опухолевых клеток была проведена на двух клеточных линиях: клетках рака молочной железы мышей 4T1 и клетках карциномы легкого человека A549. Эти линии опухолевых клеток были выбраны из-за различного содержания внутриклеточного глутатиона: так, клетки A549 содержат больше глутатиона по сравнению с клетками 4T1 [18, 19]. Согласно полученным результатам, наночастицы ТТЦК в концентрации 4 мг/мл и меньше не оказывают существенного влияния на жизнеспособность обеих клеточных линий. Так, для клеток A549 при наивысшей концентрации наночастиц ТТЦК (4 мг/мл) жизнеспособность клеток не снизилась более 90% по сравнению с контролем (рис. 3).

Оценка ассоциации наночастиц с опухолевыми клетками. Изучение ассоциации наночастиц с опухолевыми клетками и дальнейшей их интернализации проводили на клеточной линии 4T1. Для исследования этого процесса в динамике клетки были визуализированы через различные промежутки времени (24, 48 и 72 ч). Установлено, что в течение этого времени сигнал RhB частично ослабевает, однако отдельные частицы все еще различимы (рис. 4).

Оценка биораспределения наночастиц ТТЦК. Для изучения биораспределения наночастиц в них был загружен краситель Су5.5, который выбирали в качестве флуоресцентного красителя дальнего красного диапазона для визуализации наночастиц в тканях. Эксперимент был проведен на модели мышей BALB/c с опухолью 4T1. Опухоль создавали путем подкожного введения клеток 4T1. Распределение наночастиц ТТЦК, загруженных Су5.5, оценивали с помощью флуоресцентной визуализации. При сравнении результатов эксперимента с красителем, загруженным в ТТЦК, и «свободным» Су5.5 установ-

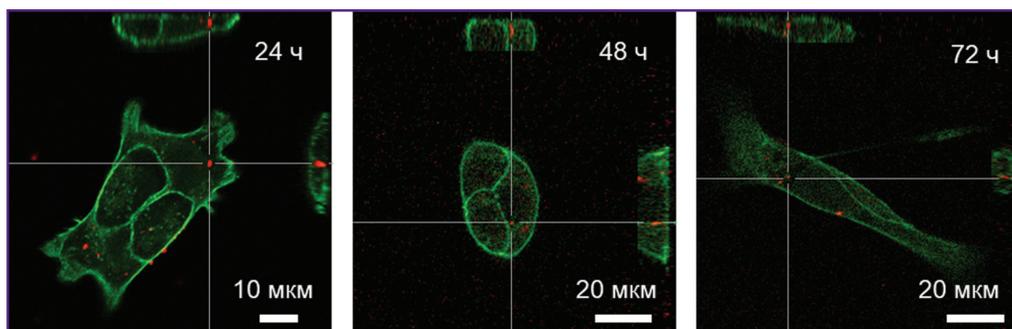


Рис. 4. Изображения клеток 4Т1, окрашенных фаллоидином, меченным флуоресцеином

Красная флуоресценция исходит от наночастиц ТТЦК, меченных RhB. Изображения получены с использованием конфокальной лазерной сканирующей микроскопии через разные промежутки инкубации

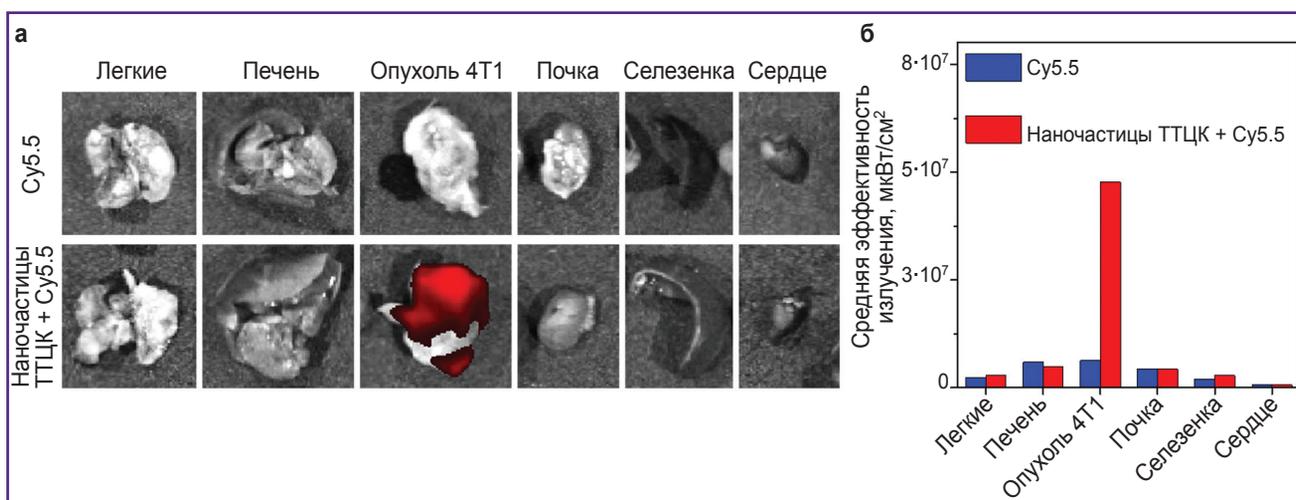


Рис. 5. Оценка распределения наночастиц ТТЦК в органах модельных животных после интратуморального введения:

а — фотографии основных органов мышей, которым были введены либо наночастицы ТТЦК с Cy5.5, либо раствор Cy5.5, через 6 ч после введения; **б** — количественная оценка интенсивности сигнала Cy5.5 от различных органов

лено, что большая часть наночастиц сохранялась в тканях опухоли через 6 ч после внутритуморального введения (рис. 5). Более того, через 6 ч наночастицы продемонстрировали значительно более высокую степень удержания Cy5.5 в тканях опухоли по сравнению со «свободным» красителем.

Обсуждение

В данном исследовании представлена новая система редокс-чувствительных наночастиц на основе ТТЦК и изучен их потенциал для биовизуализации. Полученные результаты свидетельствуют, что эти наночастицы обладают уникальными свойствами, которые могут быть полезны для биомедицинских приложений. Синтез наночастиц ТТЦК достаточно прост и воспроизводим, что само по себе является преимуществом в контексте

увеличения масштаба производительности для дальнейших исследований. Размер наночастиц составил 120 ± 20 нм, что составляет оптимальный диапазон для использования эффекта увеличенной проницаемости и удержания в опухолевых тканях. Морфология частиц, подтвержденная СЭМ и ПЭМ, говорит об их стабильности, что имеет большое значение для дальнейших биологических экспериментов. Важно отметить, что дисульфидные группы, входящие в состав ТТЦК, обеспечивают редокс-чувствительность, но при этом не вызывают значительной агрегации частиц, которая часто является проблемой для подобных систем.

Эксперименты продемонстрировали, что наночастицы ТТЦК способны эффективно удерживать родамин Б, при этом адсорбция является оптимальной при концентрации красителя 1 мг/мл. В редокс-активных средах, таких как глутатион или ацетилцистеин,

высвобождение родамина В происходит в значительно большей степени, чем в нейтральных растворах. Это подтверждает селективность разрушения наночастиц в опухолевых тканях с повышенным уровнем глутатиона. Такие данные подчеркивают потенциал редокс-чувствительных систем для целевой доставки. Цитотоксичность наночастиц ТТЦК на клетках 4Т1 и А549 незначительна даже при концентрации 4 мг/мл, что свидетельствует о высокой биосовместимости системы. Это особенно важно в контексте потенциального клинического применения, где минимизация токсичности является ключевым требованием.

Конфокальная визуализация показала, что наночастицы ТТЦК эффективно ассоциируются с клетками и остаются стабильными в течение 72 ч, хотя интенсивность сигнала красителя со временем уменьшается. Это может быть связано с постепенным метаболизмом наночастиц внутри клеток и высвобождением красителя.

Биораспределение в модели опухоли 4Т1 продемонстрировало, что наночастицы сохраняются в опухолевых тканях через 6 ч после интратуморального введения, в то время как свободный краситель быстро выводится. Это ключевой результат, который подтверждает, что наночастицы ТТЦК обеспечивают стабильное накопление в опухоли, что может быть полезно для диагностики и терапии. В сравнении с другими редокс-чувствительными наночастицами, такими как полисульфидные полимеры, система на основе ТТЦК менее токсична, а сам ее синтез более прост и масштабируем. И, наконец, представленные наночастицы обладают высокой загружающей способностью.

Следует отметить, что результаты являются многообещающими, исследование имеет некоторые ограничения. Например, биораспределение было изучено только после интратуморального введения. В дальнейшем планируется изучить фармакокинетику после внутривенного введения, чтобы оценить потенциал использования наночастиц ТТЦК для системной доставки. Другим направлением исследований представляется модификация поверхности наночастиц для повышения селективности к опухолевым тканям.

Заключение

Разработанная и охарактеризованная новая система наночастиц на основе тритиоциануровой кислоты продемонстрировала высокую эффективность для применения в биовизуализации и потенциально — в целевой доставке терапевтических агентов. Уникальная структура ТТЦК, включающая дисульфидные группы, обеспечивает редокс-чувствительность, что делает эти наночастицы особенно перспективными для выполнения избирательно-го разрушения в опухолевых тканях. Полученные наночастицы обладают оптимальным размером (120 ± 20 нм) для накопления в опухолях благодаря

эффекту увеличенной проницаемости и удержания. Они продемонстрировали высокую стабильность, способность удерживать и высвобождать флуоресцентные молекулы в присутствии глутатиона, а также минимальную токсичность по отношению к клеткам. Биораспределение показало, что наночастицы сохраняются в опухолевых тканях после интратуморального введения, в то время как свободный краситель быстро выводится.

Представленная работа демонстрирует потенциал использования таких материалов, как ТТЦК, для создания биосовместимых и функциональных наночастиц. Это открывает новые перспективы для разработки систем, которые могут применяться как для диагностики, так и для терапии опухолей.

Финансирование исследования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда №23-23-00317.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература/References

1. Wolfbeis O.S. An overview of nanoparticles commonly used in fluorescent bioimaging. *Chem Soc Rev* 2015; 44(14): 4743–4768, <https://doi.org/10.1039/c4cs00392f>.
2. Li W., Kaminski Schierle G.S., Lei B., Liu Y., Kaminski C.F. Fluorescent nanoparticles for super-resolution imaging. *Chem Rev* 2022; 122(15): 12495–12543, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00050>.
3. Lian W., Litherland S.A., Badrane H., Tan W., Wu D., Baker H.V., Gulig P.A., Lim D.V., Jin S. Ultrasensitive detection of biomolecules with fluorescent dye-doped nanoparticles. *Anal Biochem* 2004; 334(1): 135–144, <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.08.005>.
4. Roy S., Bag N., Bardhan S., Hasan I., Guo B. Recent progress in NIR-II fluorescence imaging-guided drug delivery for cancer theranostics. *Adv Drug Deliv Rev* 2023; 197: 114821, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.114821>.
5. Al-Thani A.N., Jan A.G., Abbas M., Geetha M., Sadasivuni K.K. Nanoparticles in cancer theragnostic and drug delivery: a comprehensive review. *Life Sci* 2024; 352: 122899, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2024.122899>.
6. Li Y., Chen Q., Pan X., Lu W., Zhang J. New insight into the application of fluorescence platforms in tumor diagnosis: from chemical basis to clinical application. *Med Res Rev* 2023; 43(3): 570–613, <https://doi.org/10.1002/med.21932>.
7. Wang K., Du Y., Zhang Z., He K., Cheng Z., Yin L., Dong D., Li C., Li W., Hu Z., Zhang C., Hui H., Chi C., Tian J. Fluorescence image-guided tumour surgery. *Nature Reviews Bioengineering* 2023; 1(3): 161–179, <https://doi.org/10.1038/s44222-022-00017-1>.
8. Shi Q., Xu J., Xu H., Wang Q., Huang S., Wang X., Wang P., Hu F. Polystyrene-based matrix to enhance the fluorescence of aggregation-induced emission luminogen for fluorescence-guided surgery. *Small* 2024; 20(22): e2309589, <https://doi.org/10.1002/smll.202309589>.
9. Sutton P.A., van Dam M.A., Cahill R.A., Mieog S., Polom K., Vahrmeijer A.L., van der Vorst J. Fluorescence-

guided surgery: comprehensive review. *BJS Open* 2023; 7(3): zrad049, <https://doi.org/10.1093/bjsopen/zrad049>.

10. Bortot B., Mangogna A., Di Lorenzo G., Stabile G., Ricci G., Biffi S. Image-guided cancer surgery: a narrative review on imaging modalities and emerging nanotechnology strategies. *J Nanobiotechnology* 2023; 21(1): 155, <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01926-y>.

11. Ali M.K., Javaid S., Afzal H., Zafar I., Fayyaz K., Ain Q.U., Rather M.A., Hossain M.J., Rashid S., Khan K.A., Sharma R. Exploring the multifunctional roles of quantum dots for unlocking the future of biology and medicine. *Environ Res* 2023; 232: 116290, <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116290>.

12. Hang Y., Wang A., Wu N. Plasmonic silver and gold nanoparticles: shape- and structure-modulated plasmonic functionality for point-of-care sensing, bio-imaging and medical therapy. *Chem Soc Rev* 2024; 53(6): 2932–2971, <https://doi.org/10.1039/d3cs00793f>.

13. Farinha P., Coelho J.M.P., Reis C.P., Gaspar M.M. A comprehensive updated review on magnetic nanoparticles in diagnostics. *Nanomaterials (Basel)* 2021; 11(12): 3432, <https://doi.org/10.3390/nano11123432>.

14. Ansari M.A., Shoaib S., Chauhan W., Gahtani R.M., Hani U., Alomary M.N., Alasiri G., Ahmed N., Jahan R., Yusuf N., Islam N. Nanozymes and carbon-dots based

nanoplatfoms for cancer imaging, diagnosis and therapeutics: current trends and challenges. *Environ Res* 2024; 241: 117522, <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117522>.

15. Hossain M.K., Khan M.I., El-Denglawey A. A review on biomedical applications, prospects, and challenges of rare earth oxides. *Applied Materials Today* 2021; 24: 101104, <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2021.101104>.

16. Ng K.K., Zheng G. Molecular interactions in organic nanoparticles for phototheranostic applications. *Chem Rev* 2015; 115(19): 11012–11042, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00140>.

17. Chen M., Liu D., Liu F., Wu Y., Peng X., Song F. Recent advances of redox-responsive nanoplatfoms for tumor theranostics. *J Control Release* 2021; 332: 269–284, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.02.030>.

18. Zhu C., Hu W., Wu H., Hu X. No evident dose-response relationship between cellular ROS level and its cytotoxicity — a paradoxical issue in ROS-based cancer therapy. *Sci Rep* 2014; 4: 5029, <https://doi.org/10.1038/srep05029>.

19. Tobwala S., Fan W., Hines C.J., Folk W.R., Ercal N. Antioxidant potential of *Sutherlandia frutescens* and its protective effects against oxidative stress in various cell cultures. *BMC Complement Altern Med* 2014; 14: 271, <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-271>.