

# 纳米银治疗感染性角膜炎的作用机制研究进展

张欣慧, 王宝蕙

济宁医学院, 山东 济宁

收稿日期: 2022年11月21日; 录用日期: 2022年12月15日; 发布日期: 2022年12月26日

## 摘要

感染性角膜炎是我国致盲眼病的重要原因, 针对难治性的感染性角膜炎, 传统的抗菌药物难以达到良好的治疗效果, 纳米银具有较大的比表面积、较强的渗透力、耐氧化性和无耐药性, 具有良好的抗微生物效果。本文就当前纳米抗微生物治疗感染性角膜炎的作用机制、应用前景进行综述。

## 关键词

纳米银, 感染性角膜炎

# Research Advances on the Mechanism of AgNPs in the Treatment of Infectious Keratitis

Xinhui Zhang, Baohui Wang

Jining Medical University, Jining Shandong

Received: Nov. 21<sup>st</sup>, 2022; accepted: Dec. 15<sup>th</sup>, 2022; published: Dec. 26<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

Infectious keratitis is an important cause of blindness in China. For refractory infectious keratitis, traditional antibacterial drugs are difficult to achieve good therapeutic effects, and nanosilver has a large specific surface area, strong permeability, oxidation resistance and no drug resistance, and has good anti-microbial effects. This article reviews the current mechanism of action and prospects for the application of nano-antimicrobial therapy for infectious keratitis.

## Keywords

### Silver Nanoparticles, Infectious Keratitis

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

感染性角膜病是我国常见的致盲性眼病, 早期准确的诊断、治疗是挽救视力的关键。传统的治疗手段主要是药物点眼或配合全身用药, 对重症感染不可控制的患者只能采取角膜移植或破坏性手术治疗[1]。银制剂用于抗感染是较早的话题, 但近年来随着纳米技术研究的进展, 纳米银(AgNPs)制剂在眼部抗感染的作用引起了广泛关注。AgNPs 是指粒径小于 100 nm 的银粒子, 它具有较大的比表面积、较强的渗透力、抗氧化性和无耐药性[2]。2002 年, Aymonier 等人首次发现 AgNPs 表现出抗菌特性[2], 相较于单纯的银离子, AgNPs 表现出更持久稳定的抗菌效果。由于纳米银制剂的生物安全性至今未得到明确验证, 因此此类制剂并未得到广泛应用, 现学者为提高纳米银药物的生物安全性、药物稳定性进行了广泛的研究。本文就 AgNPs 在各种感染性角膜病中的抗微生物机制进行综述, 为将来抗感染新药物的研发与应用提供思路。

## 2. 纳米银治疗感染性角膜炎

### 2.1. 细菌性角膜炎

细菌性角膜炎是眼科最常见的感染性眼病之一, 目前临床最常用的喹诺酮类药物可以有效控制细菌性角膜溃疡[1], 近 40 年来, 我国细菌性角膜炎的菌种也发生了变化, 刘佳敏等[3]总结了我国近些年来的文献资料进行统计分析, 发现细菌性角膜炎的分离的菌种中, 革兰阳性菌的比例升高, 其中凝固酶阴性葡萄球菌与铜绿假单胞菌最常见, 各种病原菌对抗生素的敏感性均有下降。开发新的抗菌药物可能是未来感染疾病治疗的关键。

AgNPs 粒子持续性释放银离子有利于杀死细菌[4]。细胞膜表面的硫蛋白对金属离子具有吸引力, 银离子可锚定于细胞壁和细胞质膜上进行累积, 增加细胞壁、细胞膜的通透性[5] [6], 被细胞摄取的银离子抑制线粒体代谢, 中断三磷酸腺苷产生, 产生过量的 ROS [7], 二者共同作用下, 导致细胞包膜破裂、细胞裂解。AgNPs 颗粒尺寸极小, 它可以直接穿透细菌胞壁, 使细胞裂解[8]。与此同时银离子也可以与 DNA (脱氧核糖核酸)中的硫和磷相互作用, 阻碍 DNA 的复制, 促使胞质中的核糖体变性, 阻碍蛋白质的合成[9] [10]。磷酸化和去磷酸化是微生物生长和细胞活动的重要信号传导机制, 在细菌 DNA 复制、重组、代谢中起重要作用。AgNPs 颗粒会影响蛋白质底物(如 RNA 聚合酶因子、单链 DNA 结合蛋白、单链 DNA 结合蛋白等)磷酸化抑制它们的酶活性, 从而抑制细菌的生长[11]。

通过改变 AgNPs 粒子的形状、表面活性、周围介质等方式, AgNPs 的抗菌性能进一步发挥。例如球形 AgNPs 粒子具有更大的体积表面积比, 更易分散, 释放更多的银离子, 具有更好的杀菌及抗菌效果[12]。聚酰亚胺包裹修饰可以增加 AgNPs 颗粒自身的稳定性, 用聚多巴胺(polydopamine)和 AgNPs 颗粒修饰的氢氟酸饰玻璃球(polydopamine and hydrofluoric acid etched glass spheres)对大肠杆菌表现出了更强大的吸附力[13]。酸性环境中的 AgNPs 粒子释放速度更快[14]。据报道, AgNPs 不仅对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌具有很好的消杀作用, 还对耐药菌具有明显的协同消杀作用, Kirby Bauer [10]将 AgNPs 联合抗生

素应用明显抑制多重耐药的大肠杆菌的生长, 降低多重耐药伤寒沙门氏菌的耐药性。

Zavarshani [15]将 AgNPs 制剂与传统抗菌药物联用治愈铜绿假单胞菌性角膜炎可以明显缩短病程。AgNPs 可降低细菌的耐药性、缩短疾病病程、抑制新生血管生成, 这些优势使角膜炎患者获得良好的预后视力。

## 2.2. 真菌性角膜炎

2011年, 我国感染性角膜病临床专家共识中提到, 真菌性角膜炎在我国感染性角膜病中致盲率的居于首位, 该病与植物外伤史相关[16]。目前临床主要治疗手段是眼药水点眼或全身静脉给药。面对病程长、侵袭程度深的真菌感染, 滴眼液常常难以透过眼表到达病灶, 感染难以控制, 导致角膜穿孔, 甚至发展成为眼内炎, 此类严重的感染只能通过手术治疗, 包括角膜基质内注射抗菌药物、角膜移植、结膜覆盖术等[17][18]。

AgNPs 表现出良好的抗真菌特性, 尤其是对于炭疽病菌、念珠菌及各种植物病原菌。蛋白酶、磷脂酶、脂肪酶、溶血素、软骨素和透明质酸酶等胞外水解酶是真菌侵入和渗透组织的重要原因, 尤其天冬酰胺蛋白酶(SAP)可以降解多种人类蛋白质、血红蛋白、白蛋白、免疫蛋白。AgNPs 可以通过抑制细胞外酶的分泌影响真菌的感染进程[19]。真菌生长过程中产生的菌丝在病菌定植与黏附中有着重要的作用, AgNPs 抑制了芽管的形成。Halbandge 等人发现 AgNPs 可以抑制菌丝诱导基因(TEC)、菌丝转化基因(TUP1 和 RFG1)的表达, 影响 Ras 介导的信号转导途径, 随 AgNPs 浓度升高, 抑制作用越显著[20]。实际上, AgNPs 对真菌的影响不止于此, Jalal [19]发现 AgNPs 颗粒还可以影响真菌的超微结构, 通过透射电镜观察, 被 AgNPs 处理过的白色念珠菌使细胞膜和细胞壁产生了结构的变化, 银离子可以抑制细胞壁中  $\beta$ -葡聚糖的合成酶, 从而破坏细胞壁使其丧失机械抵抗力[21]。银离子影响细胞器释放葡萄糖和海藻糖, 引起蛋白质和生物膜的失活或变性; AgNPs 粒子识别并积聚在真菌表面的“凹坑”中, 从而影响膜脂质双层结构, 形成“孔”影响膜电位, 使胞膜破坏导致胞内物质泄漏, 诱导菌体的死亡[22]。Hwang 等人研究证明胞质肿的 AgNPs 通过 ROS 积累破坏线粒体完整性并诱导细胞色素 c 的释放, 使磷脂酰丝氨酸暴露、DNA 损伤和元蛋白酶激活, 诱导真菌启动凋亡程序[23]。

## 2.3. 病毒性角膜炎

单纯疱疹病毒性是全球流行率最高的病毒之一, 常通过直接接触或反复感染的方式侵袭眼部导致单纯疱疹病毒性角膜炎(HSK)。角膜患病后, 宿主体内的免疫炎症反应与新生血管会影响患者视力, 激素与抗病毒滴眼液是目前治疗 HSK 的主要方式[24][25]。

AgNPs 影响病毒的吸附、融合、逆转录、基因复制过程。AgNPs 粒子对病毒表面具有高附着性, 可与病毒竞争宿主细胞膜表面的多糖蛋白识别位点, 有效阻止病毒“吸附”于细胞表面, 降低病毒穿透细胞膜的能力, 干扰病毒与细胞膜的相互作用。有学者发现 AgNPs 可以通过竞争作用与 GP120 糖蛋白位点相结合抑制单纯疱疹病毒、1型人类免疫缺陷病毒在细胞内 DNA 的复制, 也可以与双链 DNA 结合抑制乙肝病毒 DNA 的复制。经过修饰的 AgNPs 还可以激活宿主免疫系统, 例如经单宁酸修饰的 AgNPs 颗粒应用于感染 HSV-2 阴道组织后, 在组织内可以检测到了大量的  $\gamma$  干扰素、CD8 T 细胞、B 细胞、浆细胞及更大量的 HSV-2 抗体[26]。

## 2.4. 阿米巴角膜炎

阿米巴原虫广泛分布于土壤、水、空气、灰尘、医疗设备中[27]。棘阿米巴角膜炎(AK)是全球性威胁人类眼健康的角膜感染性疾病, 特别是近些年角膜接触镜的使用频率较以往升高, 有关棘阿米巴角膜

炎的报道在逐渐增加[28]。由于 AK 较为罕见且症状不典型, 早期 AK 感染常常被误诊为病毒或真菌感染而导致延误治疗, 目前常见的用于治疗 AK 的药物为二葡萄糖酸洗必泰联合异乙硫氰酸丙脒或六甲脒, 但此类药物长期使用有明显的眼毒性, 且此类药不能杀灭角膜中包囊形式的阿米巴孢子, 包囊形式的阿米巴孢子是阿米巴角膜炎的复发因素之一, 药物无法控制的阿米巴角膜炎患者最终只能通过角膜移植等手术手段治疗[29]。

有实验表明, 对于临床感染者提取的阿米巴原虫, AgNPs 并未表现出敏感性[30]。经过修饰后的 AgNPs 便具有抗阿米巴活性。经过单宁酸修饰的 AgNPs 颗粒可以被阿米巴原虫吸收和内化, 通过破坏包膜、促进氧化应激等方式抑制阿米巴的生长[31]。Anwar [30] [32]等人将两性霉素 B、二甲双胍等抗菌药物搭载于 AgNPs 颗粒上, AgNPs 强大的穿透力与滞留能力明显增强了药物抗性, AgNPs 本身可以增加细胞膜通透性, 与抗菌药物产生协同作用。Marcin [31]将隐形眼镜置于加入单宁酸修饰的 AgNPs 制剂的隐形眼镜液, 阿米巴原虫的吸附率降低了 70%, 从源头上降低阿米巴角膜炎的发生率。对于阿米巴原虫感染治疗, 尚无特效药物。尤其是针对包囊形式的阿米巴孢子的治疗更为关键, AgNPs 类制剂有可发展成为针对阿米巴原虫感染的特效药物。

### 3. 纳米银的眼安全性

近些年, AgNPs 制剂的出现, 其眼安全性研究逐渐得到重视, 2007 年, Colleen M. Santoro [33]将哺乳动物的巨噬细胞在 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的银离子环境中培养 3 周, 未见明显的细胞毒性, 但在相同浓度下, 人角膜上皮细胞却产生了明显的细胞毒性反应; 在兔角膜上皮细胞、基质细胞在 AgNPs 溶液中培养时, 细胞的存活率达到 80%, 存活的细胞核中并未发现 AgNPs 颗粒, 由此推测此类制剂遗传毒性较小[12] [34]。Li-Jyuan Luo [35]推测直径大于 10 nm 的 AgNPs 颗粒不具有遗传毒性。Pecoraro [36]将成年斑马鱼在 70  $\mu\text{g}/\text{L}$  的 AgNPs 水环境培养了 30 天, 斑马鱼的角膜上皮未见任何改变。被材料包裹或搭载传统药物的 AgNPs 颗粒, 也表现出更低的细胞毒性例如 Anna Barbasz [37]等人制备抗坏血酸包被的 AgNPs 颗粒, 以降低 AgNPs 对人体细胞的毒力作用, 双明胶包裹的 AgNPs 颗粒获得了更好的抗菌性能及更低的角膜细胞毒性[35]。目前 AgNPs 在活体动物中眼部毒性的实验较少, 生物屏障和动物的自身代谢、不同的给药方式会影响 AgNPs 的吸收和生物利用度, 未来随着多重材料复合包裹技术的成熟, 高浓度的 AgNPs 制剂将在临床中得以安全应用。

### 4. 纳米银在眼科中其他应用

AgNPs 制品抗菌、抑制增生、促进伤口愈合等方面表现出色, 已经在临床上应用于骨科、口腔科、皮肤科、烧伤科、妇科等科室, 但在眼科领域, 该材料的应用几乎为空白。AgNPs 还具有很多其他的作用, 例如抗新生血管生长。角膜是一处特殊的、无血管生长的组织, 各种外来刺激总会使新生血管长入角膜, 若血管长入瞳孔区, 会对视力产生明显的影响, Li-Jyuan Luo [35]等人发现, 在鸡绒毛尿囊膜和兔角膜新生血管模型中, AgNPs 对新生血管有明显的消退作用。AgNPs 也可以用作特异性标记物, AgNPs 可以标记小鼠视网膜切片中的脂肪酸, 以便了解视网膜组织中脂肪酸的分布, 通过脂肪酸分布来分析生物学机制与疾病发生机制[38]。AgNPs 还能够吸附、结合、携带其他的化合物, 如药物、探针等。结合 AgNPs 的种种优势, AgNPs 或许可以应用于治疗眼底新生血管, 眼眶、眼内肿瘤等疾病。

### 5. 小结

以纳米技术为基础的药物输送系统是一种新兴的科学趋势, 在过去几年中, 它在医学领域得到了广泛的关注。AgNPs 颗粒搭载药物制剂可以增强药物抗生物活性、生物利用度和生物相容性。此类药物具

有更强的靶向性,减少对生物细胞的毒害作用。AgNPs 制剂有望成为眼科新兴的抗感染药物。然而,AgNPs 的使用目前具有明显的局限性,关于 AgNPs 的眼部局部给药后的眼部代谢、全身吸收代谢情况、细胞毒性、遗传毒性等未得到透彻的研究;其二,银属于重金属,关于制备、应用、销毁过程中可能产生的环境污染问题,应同样要得到重视。目前该领域较为空白,随着纳米材料研究领域的进一步成熟,在未来 AgNPs 或可在感染性角膜疾病中得到广泛的应用。

## 参考文献

- [1] 张文华. 应重视感染性角膜病的综合治疗[J]. 中华眼科杂志, 1998, 34(1): 5-7.
- [2] Aymonier, C., Schlotterbeck, U., Antonietti, L., *et al.* (2002) Hybrids of Silver Nanoparticles with Amphiphilic Hyperbranched Macromolecules Exhibiting Antimicrobial Properties. *Chemical Communications*, No. 24, 3018-3019. <https://doi.org/10.1039/b208575e>
- [3] 刘佳敏, 曹凯, 张子俊, 等. 近 40 年我国细菌性角膜炎病原学及药物敏感性变化 Meta 分析[J]. 中华实验眼科杂志, 2022, 40(2): 157-164.
- [4] Bapat, R.A., Chaubal, T.V., Joshi, C.P., *et al.* (2018) An Overview of Application of Silver Nanoparticles for Biomaterials in Dentistry. *Materials Science & Engineering C—Materials for Biological Applications*, **91**, 881-898. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.05.069>
- [5] Khorrani, S., Zarrabi, A., Khaleghi, M., *et al.* (2018) Selective Cytotoxicity of Green Synthesized Silver Nanoparticles against the MCF-7 Tumor Cell Line and Their Enhanced Antioxidant and Antimicrobial Properties. *International Journal of Nanomedicine*, **13**, 8013-8024. <https://doi.org/10.2147/IJN.S189295>
- [6] Bondarenko, O.M., Sihtmäe, M., Kuzmičiova, J., *et al.* (2018) Plasma Membrane Is the Target of Rapid Antibacterial Action of Silver Nanoparticles in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Nanomedicine*, **13**, 6779-6790. <https://doi.org/10.2147/IJN.S177163>
- [7] Ramkumar, V.S., Pugazhendhi, A., Gopalakrishnan, K., *et al.* (2017) Biofabrication and Characterization of Silver Nanoparticles Using Aqueous Extract of Seaweed *Enteromorpha compressa* and Its Biomedical Properties. *Biotechnology Reports (Amst)*, **14**, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.02.001>
- [8] Liao, C., Li, Y. and Tjong, S.C. (2019) Bactericidal and Cytotoxic Properties of Silver Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, 449. <https://doi.org/10.3390/ijms20020449>
- [9] Durán, N., Nakazato, G. and Seabra, A.B. (2016) Antimicrobial Activity of Biogenic Silver Nanoparticles, and Silver Chloride Nanoparticles: An Overview and Comments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **100**, 6555-6570. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7657-7>
- [10] Manna, D.K., Mandal, A.K., Sen, I.K., *et al.* (2015) Antibacterial and DNA Degradation Potential of Silver Nanoparticles Synthesized via Green Route. *International Journal of Biological Macromolecules*, **80**, 455-459. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.028>
- [11] Dakal, T.C., Kumar, A., Majumdar, R.S., *et al.* (2016) Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. *Frontiers in Microbiology*, **7**, Article No. 1831. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01831>
- [12] Nguyen, D.D., Luo, L.J. and Lai, J.Y. (2021) Toward Understanding the Purely Geometric Effects of Silver Nanoparticles on Potential Application as Ocular Therapeutics via Treatment of Bacterial Keratitis. *Materials Science & Engineering C—Materials for Biological Applications*, **119**, Article ID: 111497. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111497>
- [13] Salleh, A., Naomi, R., Utami, N.D., *et al.* (2020) The Potential of Silver Nanoparticles for Antiviral and Antibacterial Applications: A Mechanism of Action. *Nanomaterials (Basel)*, **10**, 1566. <https://doi.org/10.3390/nano10081566>
- [14] Yin, I.X., Zhang, J., Zhao, I.S., *et al.* (2020) The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. *International Journal of Nanomedicine*, **15**, 2555-2562. <https://doi.org/10.2147/IJN.S246764>
- [15] Zavarshani, M., Ahmadi, M., Dastmalchi, S.H., *et al.* (2019) Comparison Therapeutic Effects of Ciprofloxacin, Silver Nanoparticles and Their Combination in the Treatment of *Pseudomonas keratitis* in Rabbit: An Experimental Study. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **18**, 320-327.
- [16] 中华医学学会眼科学分会角膜病学组. 感染性角膜病临床诊疗专家共识(2011 年) [J]. 中华眼科杂志, 2012, 48(1): 72-75.
- [17] Prakash, G., Sharma, N., Goel, M., *et al.* (2008) Evaluation of Intrastromal Injection of Voriconazole as a Therapeutic Adjunctive for the Management of Deep Recalcitrant Fungal Keratitis. *American Journal of Ophthalmology*, **146**, 56-59. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2008.02.023>

- [18] 刘涛, 丘亮辉. 结膜瓣遮盖术治疗难治性角膜溃疡的临床疗效[J]. 中国实用医刊, 2014, 41(10): 28-29.
- [19] Jalal, M., Ansari, M.A., Alzohairy, M.A., *et al.* (2019) Anticandidal Activity of Biosynthesized Silver Nanoparticles: Effect on Growth, Cell Morphology, and Key Virulence Attributes of Candida Species. *International Journal of Nanomedicine*, **14**, 4667-4679. <https://doi.org/10.2147/IJN.S210449>
- [20] Halbandge, S.D., Jadhav, A.K., Jangid, P.M., *et al.* (2019) Molecular Targets of Biofabricated Silver Nanoparticles in *Candida albicans*. *The Journal of Antibiotics (Tokyo)*, **72**, 640-644. <https://doi.org/10.1038/s41429-019-0185-9>
- [21] Gutiérrez, J.A., Caballero, S., Díaz, L.A., *et al.* (2018) High Antifungal Activity against Candida Species of Monometallic and Bimetallic Nanoparticles Synthesized in Nanoreactors. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, **4**, 647-653. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.7b00511>
- [22] Kim, K.J., Sung, W.S., Suh, B.K., *et al.* (2009) Antifungal Activity and Mode of Action of Silver Nano-Particles on *Candida albicans*. *Biometals*, **22**, 235-242. <https://doi.org/10.1007/s10534-008-9159-2>
- [23] Hwang, I.S., Lee, J., Hwang, J.H., *et al.* (2012) Silver Nanoparticles Induce Apoptotic Cell Death in *Candida albicans* through the Increase of Hydroxyl Radicals. *FEBS Journal*, **279**, 1327-1338. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2012.08527.x>
- [24] 冯敏, 高杨, 杨亚丽, 等. 人类单纯疱疹病毒流行情况分析[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2019(12): 937-950.
- [25] Looker, K.J., Elmes, J., Gottlieb, S.L., *et al.* (2017) Effect of HSV-2 Infection on Subsequent HIV Acquisition: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, **17**, 1303-1316. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30405-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30405-X)
- [26] Orłowski, P., Kowalczyk, A., Tomaszewska, E., *et al.* (2018) Antiviral Activity of Tannic Acid Modified Silver Nanoparticles: Potential to Activate Immune Response in Herpes Genitalis. *Viruses*, **10**, 524. <https://doi.org/10.3390/v10100524>
- [27] Siddiqui, R., Dudley, R. and Khan, N.A. (2012) Acanthamoeba Differentiation: A Two-Faced Drama of Dr Jekyll and Mr Hyde. *Parasitology*, **139**, 826-834. <https://doi.org/10.1017/S0031182012000042>
- [28] Diehl, M., Paes, J. and Rott, M.B. (2021) Genotype Distribution of Acanthamoeba in Keratitis: A Systematic Review. *Parasitology Research*, **120**, 3051-3063. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07261-1>
- [29] Lorenzo-Morales, J., Khan, N.A. and Walochnik, J. (2015) An Update on *Acanthamoeba keratitis*: Diagnosis, Pathogenesis and Treatment. *Parasite*, **22**, 10. <https://doi.org/10.1051/parasite/2015010>
- [30] Anwar, A., Soomaroo, A., Anwar, A., *et al.* (2020) Metformin-Coated Silver Nanoparticles Exhibit Anti-Acanthamoebic Activities against both Trophozoite and Cyst Stages. *Experimental Parasitology*, **215**, Article ID: 107915. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107915>
- [31] Padzik, M., Hendiger, E.B., Chomicz, L., *et al.* (2018) Tannic Acid-Modified Silver Nanoparticles as a Novel Therapeutic Agent against Acanthamoeba. *Parasitology Research*, **117**, 3519-3525. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6049-6>
- [32] Anwar, A., Siddiqui, R., Hussain, M.A., *et al.* (2018) Silver Nanoparticle Conjugation Affects Anti-Acanthamoebic Activities of Amphotericin B, Nystatin, and Fluconazole. *Parasitology Research*, **117**, 265-271. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5701-x>
- [33] Santoro, C.M., Duchsherer, N.L. and Grainger, D.W. (2007) Antimicrobial Efficacy and Ocular Cell Toxicity from Silver Nanoparticles. *Nanobiotechnology*, **3**, 55-65. <https://doi.org/10.1007/s12030-008-9007-z>
- [34] Lee, H. and Park, K. (2019) *In Vitro* Cytotoxicity of Zinc Oxide Nanoparticles in Cultured Statens Serum Institut Rabbit Cornea Cells. *Toxicological Research*, **35**, 287-294. <https://doi.org/10.5487/TR.2019.35.3.287>
- [35] Luo, L.J., Lin, T.Y., Yao, C.H., *et al.* (2019) Dual-Functional Gelatin-Capped Silver Nanoparticles for Antibacterial and Antiangiogenic Treatment of Bacterial Keratitis. *Journal of Colloid and Interface Science*, **536**, 112-126. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.10.041>
- [36] Pecoraro, R., Salvaggio, A., Scalisi, E.M., *et al.* (2019) Evaluation of the Effects of Silver Nanoparticles on Danio Reio Cornea: Morphological and Ultrastructural Analysis. *Microscopy Research and Technique*, **82**, 1297-1301. <https://doi.org/10.1002/jemt.23280>
- [37] Barbasz, A., Oćwieja, M., Piergies, N., *et al.* (2021) Antioxidant-Modulated Cytotoxicity of Silver Nanoparticles. *Journal of Applied Toxicology*, **41**, 1863-1878. <https://doi.org/10.1002/jat.4173>
- [38] Hayasaka, T., Goto-Inoue, N., Zaima, N., *et al.* (2010) Imaging Mass Spectrometry with Silver Nanoparticles Reveals the Distribution of Fatty Acids in Mouse Retinal Sections. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, **21**, 1446-1454. <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2010.04.005>