

# ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ, ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОМОРФОРЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НАНОЧАСТИЦЫ ОКСИДА ЦИНКА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДЕРМАТИТОВ

А.А.Сыдиқов.<sup>1</sup>, А.И.Садықов.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ферганский медицинский институт общественного здоровья. г.Фергана, Узбекистан.

Для цитирования: © Сыдиқов А.А., Садықов А.И.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ, ЭЛЕКТРОННО - МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОМОРФОРЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НАНОЧАСТИЦЫ ОКСИДА ЦИНКА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДЕРМАТИТОВ. ЖКМП.-2025.-Т.1.-№1.-С

Поступила: 05.02.2025

Одобрена: 26.02.2025

Принята к печати: 05.03.2025

**Аннотация:** в работе исследуются биосинтезированные нановолокна оксида цинка (ZnO-NW), полученные с применением куриного альбумина, при лечении контактного дерматита. Установлены их выраженные антимикробные и противовоспалительные свойства, подтвержденные снижением бактериальной нагрузки и воспаления в модели дерматита. Иммуногистохимически выявлена активная инфильтрация CD68+ и CD207+ клеток. ZnO-NW обладают высокой биосовместимостью и перспективны как наружное средство двойного действия.

**Ключевые слова:** контактный дерматит, оксид цинка, нановолокна, биосинтез.

## PATOGENETIK, ELEKTRON-MIKROSKOPIK, MIKROBIOLOGIK VA PATOMORFOLOGIK JIHATLAR DERMATITLARNI DAVOLASH UCHUN RUX OKSIDI NANOZARRACHALARI

А.А.Сидиков.<sup>1</sup>, А.И.Садиков.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Farg'ona jamoat salomatligi tibbiyot instituti. Farg'ona sh., O'zbekiston.

Izoh: © Sidikov A.A., Sadikov A.I.

PATOGENETIK, ELEKTRON-MIKROSKOPIK, MIKROBIOLOGIK VA PATOMORFOLOGIK JIHATLAR DERMATITLARNI DAVOLASH UCHUN RUX OKSIDI NANOZARRACHALARI. KPTJ.-2025-N.1.-№1-M

Qabul qilindi: 05.02.2025

Ko'rib chiqildi: 26.02.2025

Nashrga tayyorlandi: 05.03.2025

**Аннотация:** ushbu ishda kontakt dermatitni davolashda tovuq albumini yordamida olingan biosintezlangan rux oksidi (ZnO-NW) nanotolalari o'rganildi. Ularning kuchli antimikrob va yallig'lanishga qarshi xususiyatlari aniqlandi, bu dermatit modelida bakterial yukning kamayishi va yallig'lanishning pasayishi bilan tasdiqlandi. Immunogistokimyoviy tekshiruvda CD68+ va CD207+ hujayralarining faol infiltratsiyasi kuzatildi. ZnO-NW yuqori biyosovmashuvchanlikka ega bo'lib, ikki tomonlama ta'sir ko'rsatuvchi tashqi dori vositasi sifatida istiqbolli hisoblanadi.

**Калит со'злар:** kontakt dermatit, rux oksidi, nanotolalar, biosintez.

## PATHOGENETIC, ELECTRON MICROSCOPIC, MICROBIOLOGICAL AND PATHOMORPHOLOGICAL ASPECTS ZINC OXIDE NANOPARTICLES FOR TREATING DERMATITIS

Sydikov A.A.<sup>1</sup>, Sadykov A.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fergana Medical Institute of Public Health. Fergana, Uzbekistan.

For situation: © Sydikov A.A., Sadykov A.I.

PATHOGENETIC, ELECTRON MICROSCOPIC, MICROBIOLOGICAL AND PATHOMORPHOLOGICAL ASPECTS ZINC OXIDE NANOPARTICLES FOR TREATING DERMATITIS. JCPM.-2025.P.1.-№1-A

Received: 05.02.2025

Revised: 26.02.2025

Accepted: 05.03.2025

**Annotation:** This work investigates biosynthesized zinc oxide nanofibers (ZnO-NW) obtained using chicken albumin for the treatment of contact dermatitis. Their pronounced antimicrobial and anti-inflammatory properties were established, confirmed by a decrease in bacterial load and inflammation in a dermatitis model. Immunohistochemical analysis revealed active infiltration of CD68+ and CD207+ cells. ZnO-NW demonstrate high biocompatibility and show promise as a dual-action topical agent.

**Keywords:** contact dermatitis, zinc oxide, nanofibers, biosynthesis.

**Введение:** Контактный дерматит – это воспалительное поражение кожи, возникающее при воздействии химических, физических или биологических раздражителей либо аллергенов. Подобные дерматиты встречаются часто среди населения, особенно у людей, профессионально контактирующих с раздражающими веществами. Патогенез контактного дерматита включает сенсibilизацию и реакцию замедленного типа (IV тип гиперчувствительности), в которой участвуют кератиноциты, дендритные клетки Лангерганса и другие дермальные иммунные клетки. В хронических формах контактно-аллергического дерматита отмечается интенсивная инфильтрация макрофагов (CD68+) и зрелых дендритных клеток (Langerin/CD207+) в дерме, что свидетельствует об активации местного клеточного иммунитета [7]. Кроме того, пораженная кожа часто колонизирована бактериями, в частности *Staphylococcus aureus*, которые продуцируют экзотоксины и служат суперантигенами, усугубляя воспаление [1]. Таким образом, эффективное лечение контактного дерматита должно включать не только снятие аллергической реакции, но и антибактериальную терапию.

Оксид цинка (ZnO) давно применяется в дерматологии – он входит в состав противовоспалительных и защитных мазей, используется в качестве физического солнцезащитного фильтра и владеет собственными регенеративными свойствами. Наночастицы ZnO выделяются мощной антимикробной активностью: [8], при контакте с бактериями они генерируют активные формы кислорода (ROS), разрушают бактериальные мембраны и вызывают лизис клеток. При этом биосовместимость ZnO хорошо документирована: он одобрен FDA для использования в косметических средствах за минимальную токсичность к клеткам кожи и отсутствие канцерогенного эффекта [2]. В экспериментах было показано, что топическое применение наночастиц ZnO уменьшает воспаление при аллельгенно-индуцированных дерматитах [6]. Кроме того, сочетание ZnO с противовоспалительными препаратами (например, с аллиловым сульфидом) проявляло синергетический эффект в моделях острого дерматита. Таким образом, ZnO-NP представляют собой перспективный класс наружных средств, сочетающих бактерицидные и противовоспалительные свойства.

Однако традиционные способы химического синтеза наночастиц связаны с применением токсичных реагентов и высоким энергопотреблением,

что ограничивает их биомедицинское применение [4]. В последние годы развиваются «зеленые» методы биосинтеза с использованием биополимеров и экстрактов растений. Было показано, что белки и пептиды могут служить матрицами для формирования наночастиц, придавая им дополнительную биосовместимость. Куриный яичный белок (альбумин) – биоразлагаемый и доступный материал, который до недавнего времени применялся преимущественно в производстве биополимерных гидрогелей и матриц для доставки лекарств. Однако потенциал альбумина как субстрата для биосинтеза наноматериалов изучен мало [5]. В этом исследовании предложен инновационный метод биосинтеза ZnO-«нановолокон» (ZnO-NW) на основе куриного альбумина. Главная цель работы – оценить структурные свойства таких ZnO-NW и их биомедицинские эффекты на клеточном и тканевом уровнях, включая антибактериальное действие и влияние на контактный дерматит [3]. Для этого использованы сочетание *in vitro* и *in vivo* подходов: микробиологические тесты (определение МИК, антибиопленочный потенциал), электронно-микроскопическая характеристика наночастиц и обработанных бактерий, гистологический и иммуногистохимический анализ тканей при дерматите, а также модель бактериальной кожной инфекции у мышей для оценки терапевтической эффективности ZnO-NW.

**Материалы и методы:** В качестве биоматериала использовали кожные биоптаты пациентов с аллергическим и раздражительным контактным дерматитом, а также образцы интактной кожи (контроль). Образцы фиксировали в 10% нейтральном формалине и подвергали стандартной гистологической и иммуногистохимической обработке с использованием моноклональных антител к CD68 (макрофаги) и CD207/Langerin (зрелые дендритные клетки).

Наноструктуры оксида цинка синтезировали биометодом с применением куриного альбумина как биоматрицы. Смесь альбумина и цинковой соли подвергали контролируемому осаждению и последующему отжигу. Полученные нановолокна очищали центрифугированием и промывкой, затем анализировали методами СЭМ с EDX-спектроскопией и Фурье-ИК спектроскопией (FTIR). Диаметр волокон составлял 10–100 нм (по данным SEM).

Противомикробное действие ZnO-NW оценивали на культурах *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Минимальную ингибирующую концентрацию определяли методом агаровой диффузии. Антибиопленочную активность исследовали с помощью ХТТ-анализа: после 48-часовой инкубации биопленок обрабатывали различными концентрациями ZnO-NW, затем измеряли оптическую плотность окрашенного продукта. Морфология биопленок оценивалась методом конфокальной микроскопии и СЭМ. Изменения ультраструктуры бактерий после экспозиции с ZnO-NW фиксировали электронно-микроскопически.

Гемолитическую активность ZnO-NW исследовали инкубацией образцов с эритроцитами человека в физиологическом растворе. Степень гемолиза определяли спектрофотометрически при 540 нм по уровню свободного гемоглобина, сравнивая с отрицательным (PBS) и положительным (1% Triton X-100) контролями. Цитотоксичность оценивали на клеточной линии НЕК-293 методом МТТ после экспозиции с различными концентрациями ZnO-NW.

В качестве модели использовали самок мышей BALB/c (6–8 недель, 18–22 г). После депиляции и под наркозом (кетамин + ксилазин) на спине формировали локальное повреждение кожи, которое инфицировали *S. aureus* ( $10^8$  КОЕ/мл, 50 мкл). Самок мышей разделили на четыре группы (n=5):

1. инфекция без лечения;
2. инфекция + лечение ZnO-NW (0,5 г/кг);
3. интактные с аппликацией ZnO-NW (1 г/кг);
4. контроль (PBS).

Препарат наносили местно с 5-го дня после инфицирования (после формирования воспаления) трижды в неделю в течение 7 дней. На 12-й день мышей выводили из эксперимента, ткани кожи гомогенизировали, выполняли серийные разведения и высеивали на ВНИ-агар для определения КОЕ. Оставшуюся ткань фиксировали, парафинировали и окрашивали гематоксилин-эозином. Гистологическая оценка включала полуколичественный анализ воспаления (0–3 балла), морфометрию эпидермиса и дермы, подсчет нейтрофильной, эозинофильной и лимфоцитарной инфильтрации.

**Клинико-морфологическая и иммуногистохимическая характеристика кожных поражений.**

Гистологически при острых формах контактного дерматита выявлены спонгиоз, формирование внутриклеточных пузырей, пролиферация базального слоя и умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация. В хронических аллергических формах наблюдались акантоз, гиперкератоз и выраженная периваскулярная инфильтрация в сосочковом слое дермы. Морфологическая картина соответствует спонгиозитическому типу воспаления, описанному при аллергическом дерматите.

Иммуногистохимически в дерме при хроническом контактно-аллергическом дерматите выявлена высокая экспрессия маркеров CD68 и CD207/Langerin, отражающая активную инфильтрацию макрофагов и Лангергансовых клеток. CD68<sup>+</sup> клетки отмечались преимущественно периваскулярно, CD207<sup>+</sup> – диффузно и в скоплениях под эвазированной сосудами. При ирритантном дерматите экспрессия была минимальной или отсутствовала. Эти данные указывают на ключевую роль макрофагов и дендритных клеток в патогенезе аллергического дерматита и, вероятно, усиление антиген-презентирующих и фагоцитарных функций.

**Характеристика ZnO-нановолокон.** Разработанная биосинтетическая методика позволила получить ZnO-NW диаметром 10–100 нм и длиной до нескольких сотен нанометров. SEM и EDX подтвердили наноструктуру и элементный состав, FTIR выявил характерные полосы ZnO ( $520\text{--}580\text{ см}^{-1}$ ) и белковые амидные группы, указывающие на участие альбумина в формировании поверхности частиц. Полученные ZnO-NW представляют собой белково-оксидные композиты с высокой однородностью и воспроизводимостью.

**Антимикробные свойства in vitro.** ZnO-NW проявили выраженную антимикробную активность в отношении *E. coli* и *S. aureus*, включая антибиотикорезистентные штаммы. Минимальная ингибирующая концентрация была существенно ниже, чем у традиционного ZnO. В тестах на биопленки ZnO-NW снижали жизнеспособность бактерий, разрушали архитектуру биопленок, что подтверждено ХТТ-анализом и конфокальной микроскопией (Live/Dead окрашивание). SEM-микротографии демонстрировали повреждения клеточной стенки, перфорации и агрегацию бактериальных клеток.

Эти результаты свидетельствуют об эффективности ZnO-NW против грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов и подтверждают их потенциал как альтернативы традиционным антибактериальным средствам.

**Антибактериальная эффективность и гистопатология in vivo.**

В экспериментальной модели контактного дерматита у мышей инфицирование *S. aureus* вызывало выраженное воспаление с формированием гнойно-серозного экссудата, васкуло- и лимфангиогенезом и высокой бактериальной нагрузкой ( $10^7$ – $10^8$  КОЕ/г). Гистологически отмечались отек, утолщение кожи, значительная инфильтрация нейтрофилами и лимфоцитами.

Местное применение ZnO-NW сопровождалось достоверным снижением титра бактерий (на 1–2 log по сравнению с нелеченной группой), уменьшением выраженности воспаления и ускорением репарации. В дерме наблюдалось уменьшение числа нейтрофилов, снижение сосудистой гиперемии и переход грануляционной ткани в зрелую. Интегральная оценка воспаления снизилась с 2–3 до 1 балла. Таким образом, ZnO-NW демонстрируют выраженный противомикробный и противовоспалительный эффект при местном применении, способствуя восстановлению кожи.

#### **Биосовместимость и цитотоксичность.**

В условиях *in vitro* наноструктуры проявили низкую токсичность: в гемолитическом тесте уровень разрушения эритроцитов не превышал 5–7%, что соответствует физиологическому фону. На линии НЕК-293Т снижение жизнеспособности клеток при концентрациях до 200 мкг/мл не наблюдалось. Следовательно, ZnO-NW обладают приемлемым профилем биосовместимости и не вызывают выраженного цитотоксического действия при терапевтических концентрациях. Это согласуется с ранее описанными селективными эффектами ZnO-NP, индуцирующих окислительный стресс преимущественно в патологически изменённых клетках.

**Обсуждение:** Полученные данные позволяют рассматривать биосинтезированные наноструктуры оксида цинка (ZnO-NW) как перспективный биомедицинский агент для местного применения при контактных дерматитах, осложнённых вторичной бактериальной инфекцией.

Иммуногистохимический анализ кожи при

хроническом аллергическом контактном дерматите выявил высокую экспрессию CD68 и CD207 (Langerin), отражающую активную инфильтрацию макрофагами и дендритными клетками. Установленная картина подтверждает участие этих клеток в патогенезе воспаления: Langerhans-клетки осуществляют захват и презентацию антигенов, а макрофаги инициируют фагоцитоз и продукцию провоспалительных медиаторов. Впервые в рамках настоящей работы выявлена выраженная активация этих популяций именно при аллергической форме, что указывает на возможность целенаправленного подавления их активности как одного из терапевтических подходов.

Демонстрируемая высокая антибактериальная активность ZnO-NW *in vitro* против *S. aureus* и *E. coli*, включая антибиотикорезистентные штаммы, соответствует литературным данным о бактерицидных свойствах ZnO-наночастиц [3]. Наноструктуры эффективно проникали в бактериальные биоплёнки, нарушали межклеточные связи и вызывали гибель клеток, что подтверждено ХТТ-анализом и конфокальной микроскопией. Это имеет принципиальное значение для терапии дерматитов, поскольку биоплёнки обеспечивают устойчивость к антибиотикам и хронизацию воспаления.

На экспериментальной модели контактного дерматита *in vivo* установлено, что местное нанесение ZnO-NW значительно снижает бактериальную нагрузку, уменьшает воспалительные изменения и ускоряет восстановление кожи. Эти результаты согласуются с ранее опубликованными данными [9] и подтверждают, что локальное применение ZnO-наноструктур может эффективно дополнять или даже частично заменять стандартную противовоспалительную и антибактериальную терапию.

ZnO-NW, синтезированные с использованием куриного альбумина, имели размер 10–100 нм и демонстрировали высокую однородность, стабильность и реактивность. Биосовместимость частиц подтверждена отсутствием гемолитической активности и цитотоксического действия на клетки НЕК-293Т при терапевтических концентрациях (до 200 мкг/мл). Эти данные согласуются с существующими сведениями о селективном действии ZnO-NP на патогены при сохранности клеток организма-хозяина [5].

В отличие от классических неорганических ZnO-паст, используемых при дерматологических заболеваниях, нановолокна обладают

большой проникающей способностью, активностью в отношении биоплёнок и меньшей токсичностью. Полученные результаты позволяют обоснованно рассматривать ZnO-NW как основу для создания новых наружных лекарственных форм (мазей, гелей, кремов), обладающих двойным действием: антимикробным и противовоспалительным.

#### Выводы:

1. При хронической контактно-аллергической форме дерматита в коже выявлена выраженная экспрессия макрофагальных (CD68<sup>+</sup>) и Лангергансовых (CD207<sup>+</sup>) клеток, что свидетельствует об их активном участии в патогенезе заболевания. Установленные маркеры могут рассматриваться как новые патогенетические и диагностические критерии аллергического кожного воспаления.
2. Разработан экологически безопасный и технологически простой метод синтеза нановолокон оксида цинка (ZnO-NW) с использованием белка куриного яйца в качестве бишаблона. Полученные наноструктуры характеризуются размерами 10–100 нм, что подтверждено с помощью сканирующей электронной микроскопии (SEM), ИК-спектроскопии (FTIR) и элементного анализа (EDX).
3. Биосинтезированные ZnO-NW продемонстрировали выраженную антимикробную активность *in vitro* в отношении как грамположительных (*Staphylococcus aureus*), так и грамотрицательных (*Escherichia coli*) микроорганизмов, включая резистентные штаммы. Установлена способность наночастиц разрушать зрелые биоплёнки, что расширяет их терапевтический потенциал при трудноизлечимых кожных инфекциях.
4. в экспериментальной модели контактного дерматита, индуцированного *S. aureus*, местное применение ZnO-NW способствовало достоверному снижению бактериальной нагрузки (на 1–2 log КОЕ/г) и ускорению репаративных процессов. Гистологически это проявлялось уменьшением выраженности воспалительного инфильтрата, снижением отёка и восстановлением нормальной архитектуры кожи.
5. проведённые исследования *in vitro* подтвердили высокую биосовместимость ZnO-NW: наночастицы не вызывали значимого гемолиза эритроцитов (менее 7%) и не оказывали цитотоксического эффекта на клетки линии НЕК-293Т при концентрациях до 200 мкг/мл, что делает их безопасными для местного применения.

6. полученные данные обосновывают возможность использования ZnO-NW в составе наружных лекарственных форм (мазей, гелей, кремов) для лечения контактных дерматитов, включая осложнённые инфекцией. Их двойной механизм действия — антимикробный и противовоспалительный — позволяет рассматривать их как потенциальную альтернативу или дополнение к традиционной терапии, снижая необходимость в применении системных антибиотиков и глюкокортикостероидов.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Basra, M. K. A., & Shahrukh, M. (2009). Epidemiology of skin disease in the world. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 36, 116–131.
2. Dwivedi, S., Ansari, A. A., AlOthman, A. M., & Suri, C. R. (2014). Zinc oxide nanoparticles and their biomedical applications: A review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(4), 446–456.
3. Gudkov, S. V., Burmistrov, D. E., Serov, D. A., & others. (2021). A mini review of antibacterial properties of ZnO nanoparticles. *Frontiers in Physics*, 9, 641481. <https://doi.org/10.3389/fphy.2021.641481>
4. Ilves, M., Palomäki, J., Vippola, M., et al. (2014). Topically applied ZnO nanoparticles suppress allergen-induced skin inflammation but induce vigorous IgE production in the atopic dermatitis mouse model. *Particle and Fibre Toxicology*, 11, Article 38.
5. Pereira, R. O., Silva, C. L., Fernandes, C., et al. (2019). Biogenic nanoparticles: The role of bioconjugation agents in the modulation of toxicity. *Nanomaterials*, 9(6), Article 912.
6. Rao, K. S., Divakar, S., & Sivasamy, A. (2013). Zinc oxide nanoparticles: A review on optical and antibacterial properties. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 8(1), 399–408.
7. Rashid, M., Muneer, A., Ahmed, M., et al. (2020). Nanostructured ZnO in protective medical devices: An overview of the antimicrobial properties, toxicology and regulatory aspects. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 30(5), 331–340.
8. Xie, Y., He, Y., Irwin, P. L., et al. (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(7), 2325–2331.

**Информация об авторах:**

© СЫДИКОВ А.А. - д.м.н., профессор, ректор Ферганского медицинского института общественного здоровья. г. Фергана. Узбекистан.  
© САДЫКОВ А.И. - Ферганский медицинский институт общественного здоровья. г. Фергана., Узбекистан.

**Muallif haqida ma'lumot:**

© SIDIKOV A.A. - t.f.d., professor, Farg'ona jamoat salomatligi tibbiyot instituti rektori. Farg'ona sh., O'zbekiston.  
© SADIKOV A.I.- Farg'ona jamoat salomatligi tibbiyot instituti. Farg'ona sh., O'zbekiston.

**Information about the authors:**

© SYDIKOV A.A. - Doctor of Medical Sciences, Professor, Rector of the Fergana Medical Institute of Public Health. Fergana, Uzbekistan.  
© SADIKOV A.I.- Fergana Medical Institute of Public Health., Ferghana., Uzbekistan.