

АНОТАЦІЯ

Биченко К. О. Оцінка імунологічних механізмів після дії комплексних екзогенних факторів (фотоопромінювання, екзосом, наночастинок) на експериментальній моделі запалення. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія (Галузь знань 09 – Біологія). – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, 2023.

Дисертацію присвячено дослідженню механізмів впливу фізичних та біологічних факторів на імунорезистентність в умовах індукції експериментального запалення та оцінки ступеня цитотоксичності наночастинок діоксиду церію різних розмірів та різної концентрації в якості хімічного фактору для комплексного застосування при запальній реакції.

Біологічні процеси у живих організмах пов'язані з перенесенням і перетворенням енергії, первинним джерелом якої є сонячне світло. Механізми впливу фотоопромінювання на біооб'єкти пов'язані з дією молекул, зміною їхньої конформації та фізіологічною активністю. Найбільш важливим для всіх живих об'єктів є утворення органічних речовин у процесі фотосинтезу, коли відбувається перетворення сонячного світла на енергію хімічних зв'язків. Світло сприяє активації мікроциркуляції у клітині та впливає на метаболічні шляхи. Дія світла на живі об'єкти використовується у практиці давно, хоча досі не сформовано єдиної думки щодо механізмів світлового впливу на біооб'єкти.

Існує проблема корекції імунометаболічних показників при хронічних запальних реакціях. Відповідно до теорії запалення І. І. Мечникова (1892 р.) запалення є системним захисним процесом, який розвивається на всіх рівнях організації організму. Має фундаментальний та практичний інтерес з'ясування того, як екзогенні фактори (фізичні, хімічні, біологічні)

впливають на запальний процес. Для вирішення цієї проблеми використовують багато різних підходів, існує практика використання різних факторів – фізичних, біологічних та хімічних, які впливають на перебіг запального процесу. В якості фізичних факторів застосовують фотоопромінювання різними довжинами хвиль видимого діапазону спектру, але залишаються питання щодо механізмів та рівня ефективності такого способу при локальних та системних запальних процесах, оскільки ефекти світлового випромінювання залежать від довжини хвилі, частоти впливу, експозиції, потужності та щільності енергії. Для корекції імунометаболічних порушень також застосовують стовбурові клітини та їх метаболіти, в тому числі для корекції важких метаболічних дисфункцій – локальних та системних запальних реакцій. В той же час мало досліджень, присвячених вивченню впливу екзосом (в якості біологічного фактору), які містять екзометаболіти стовбурових клітин різного походження, фактори росту та інші фактори мікрооточення на хронічне мляве запалення. Крім світлового впливу, стовбурових клітин також застосовують різні наночастинки для підтримки редокс-системи клітин і мікроциркуляції. Наночастинки різного походження (наприклад, графітові та інші) можуть виконувати транспортну функцію, тобто володіють здатністю проникати крізь біомембрани та змінювати функції біомолекул. В цьому аспекті діоксид церію володіє цілим рядом позитивних впливів на метаболізм систем організму. Однак, через суперечливі відомості про цитотоксичність наночастинок, їх застосування супроводжується постійною дискусією про можливі механізми їхньої дії на динаміку локальних та системних запальних процесів та біологічну безпеку, а також не визначено допустимі дози та оптимальні розміри, які б не мали високого ступеня цитотоксичності.

Тому метою роботи було вивчення механізмів біологічних ефектів та дії різних довжин хвиль фотоопромінювання на стадії запального процесу, екзосом мезенхімальних стовбурових клітин на стимуляцію проліферативного потенціалу імунокомпетентних клітин в культурі *in vitro* та

визначення ступеня цитотоксичності наночастинок діоксиду церію різних характеристик за допомогою біоіндикатора *D. viridis*.

Задачами роботи було:

1. Вивчення біологічних ефектів та механізмів фотоопромінювання різних довжин хвиль ($\lambda = 660$ нм, $\lambda = 530$ нм, $\lambda = 470$ нм) на різних стадіях запального процесу.

2. Оцінка потенційної можливості екзосом, що містять екзометаболіти мезенхімальних стовбурових клітин, стимулювати проліферативний потенціал імунокомпетентних клітин пацієнтів із хронічним запаленням.

3. Визначення ступеня цитотоксичності наночастинок діоксиду церію різних розмірів та концентрацій за допомогою біоіндикатора *D. viridis* з метою їхнього практичного застосування.

4. Оцінка імунокоригуючих ефектів світлової дії різних довжин хвиль ($\lambda = 660$ нм, $\lambda = 530$ нм, $\lambda = 470$ нм) у пацієнтів з хронічним запальним процесом на тлі цукрового діабету II типу.

У роботі використовували три експериментальні моделі.

Модель I – моделювання тривалого запального процесу на тваринах. Дану модель використовували для оцінки ефектів фотоопромінювання тварин різними довжинами хвиль (660 нм, 530 нм, 470 нм) на всіх етапах запального процесу (інфільтрації, альтерації, ексудації та регенерації, проліферації). Було проведено багатоетапний експеримент на великому масиві лабораторних тварин (щури-самці породи Вістар), які були розділені на 5 груп. Група 1 (контроль) – інтактні тварини ($n = 32$). У тварин груп 2-5 було індуковано експериментальний перитоніт з метою моделювання чотирьох етапів запальної реакції. Індукцію запального процесу у тварин груп 2-5 здійснювали шляхом внутрішньочеревинного введення ліпополісахариду (ЛПС) з розрахунку 1 мкг/100 г маси тіла на 1 мл ізотонічного розчину (0,9 % NaCl). Тварин групи 2 з індукованим запаленням використовували як групу порівняння ($n = 32$). Тварин груп 3, 4, 5 (в кожній групі $n = 32$) піддавали щоденному фотоопромінюванню шляхом впливу

фотонними (світлодіодними) матрицями Коробова А. – Коробова В. «Барва-Флекс/24ФМ» на черевну стінку в один і той же час доби – вранці, до годування; час експозиції становив 10 хв. Тварин групи 3 опромінювали червоним світлом ($\lambda = 660$ нм); тварин групи 4 – зеленим світлом ($\lambda = 530$ нм), тварин групи 5 – синім світлом ($\lambda = 470$ нм). У роботі було проведено оцінку змін імунних маркерів до і після фотоопромінювання різними довжинами хвиль кожного етапу запального процесу: 1-й етап – альтерація; 2-й етап – ексудація та інфільтрація; 3-й – регенерація; 4-й – завершення запального процесу. На цьому етапі вивчали активність нейтрофілів в кисень-незалежному і кисень-залежному фагоцитозі та ступінь лімфоцитотоксичності (за Тerasакі) методом світлової мікроскопії. Вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦК), які являють собою комплекс антиген – антитіло – комплемент, оцінювали спектрофотометрично.

Модель II – оцінка проліферативної активності – використовували для оцінки можливої активуючої дії екзосом стовбурових клітин на проліферативну активність лейкоцитів периферичної крові *in vitro* для обґрунтування адресного застосування екзосом з метаболітами прогенераторних стовбурових клітин. Проліферативну активність лейкоцитів визначали методом світлової мікроскопії у культурах *in vitro* трьох варіантів: «А» – контрольна культура; «В» – культура з додавання мітогену фітогемагглютиніну; «С» – культура з додаванням екзосом з екзометаболітами мезенхімальних стовбурових клітин.

Модель III – оцінка цитотоксичної активності наночастинок діоксиду церію різної концентрації та різних розмірів (2 нм – 0,1 М; 3-4 нм – 0,2 М; 6 нм – 0,1 М) з використанням клітинного біоіндикатора *D. viridis*. За дії негативних факторів різного ступеня цитотоксичності визначали морфо-функціональні порушення клітин тест-системи: зміна форми клітин, накопичення включень, втрата джгутика, зміна характеру та напрямку руху, утворення агрегатів, виділення екзометаболітів. Підрахунок змінених клітин проводили методом світлової мікроскопії. Визначали інтегральні показники

цитотоксичності: коефіцієнт спонтанної цитотоксичності $K_{сп}$ (для контрольної культури) та коефіцієнт індукованої цитотоксичності $K_{ц}$ (для досліджуваних зразків).

На моделі ЛПС-індукованого перитоніту вивчали імунорезистентність на стадіях тривалого запального процесу після дії різних довжин хвиль ($\lambda = 660$ нм, 530 нм, 470 нм). Активація вродженого імунітету була виявлена на першому етапі запалення (інфільтрації) після дії червоного світла ($\lambda = 660$ нм): у експериментальних тварин з індукованою запальною реакцією показники були вищими, ніж у тварин групи порівняння із запаленням без фотовпливу. Зелене світло ($\lambda = 530$ нм) призводило до нормалізації показників клітинного імунітету та зниження показників гуморального імунітету на другому етапі запалення (регенерації). Синє світло ($\lambda = 470$ нм) сприяло зниженню досліджуваних показників імунітету на третьому етапі запалення (проліферації). У кожній групі тварин після впливу певної довжини хвилі терміни етапів запалення скоротилися відносно групи порівняння (тварини з ЛПС-індукованим перитонітом без фотовпливу).

Виявлено, виражену стимулюючу дію екзосом стовбурових клітин на проліферативну активність порівняно з мітогеном ФГА в культурі лейкоцитів пацієнтів із хронічними запальними процесами. Застосування екзометаболітів стовбурових клітин у вигляді екзосом (як біологічний фактор) для транспортування активних клітинних компонентів може бути ефективним засобом для корекції імунометаболічних порушень та стимуляції регенеративних процесів.

Як хімічний фактор застосовували наночастинки, які є активаторами міграції адаптерних пептидів і володіють цілим рядом позитивних впливів на метаболізм систем організму. Вивчали потенційну цитотоксичність наночастинок (як хімічний фактор) діоксиду церію різного розміру та концентрації. Після внесення до тест-системи *D. viridis* наночастинок діоксиду церію малого розміру (2 нм у концентрації 0,1 М) відзначали незначні уповільнення руху деяких клітин мікродорості. Кількість клітин зі

зміненою морфологією була на рівні контролю. Клітини *D. viridis* не утворювала агрегати за дії наночастинок 0,1 М діоксиду церію розміром 2 нм. Коефіцієнт цитотоксичності Кц не відрізнявся від контролю. Після інкубації тест-системи *D. viridis* з діоксидом церію в концентрації 0,1 М розміром 6 нм усі клітини тест-системи набували деформованої округлої форми, втрачали джгутики та утворювали великі за розміром скупчення клітин (макроагрегати). Коефіцієнт цитотоксичності в цьому випадку був багаторазово підвищений відносно контролю. Тобто, після інкубації тест-системи *D. viridis* з діоксидом церію максимального розміру 6 нм в концентрації 0,1 М спостерігали виражені цитотоксичні ефекти. Тобто, дослідження щодо цитотоксичності наночастинок діоксиду церію з різними характеристиками із застосуванням клітинного біоіндикатора *D. viridis* дозволило виявити оптимальну концентрацію та розміри наночастинок (2 нм, 0,01 М), які не проявляли цитотоксичної дії.

Таким чином, в роботі вперше показано, що фотовплив різними довжинами хвиль приводив до різних ефектів на етапи запалення: від активації до інгібування показників вродженого імунітету на певних етапах запалення, що призводило, у свою чергу, до скорочення термінів завершення запального процесу. Після опромінювання червоним світлом ($\lambda = 660$ нм) виявили активацію фагоцитозу (на 30 %), посилення гуморальних реакцій (збільшення ступеню лімфоцитотоксичності та концентрації циркулюючих імунних комплексів на 50 %), що супроводжувалось скороченням першої стадії запального процесу порівняно з контролем (ЛПС-індукований перитоніт без світлового впливу) на 9 діб. Зелене світло ($\lambda = 530$ нм) сприяло збільшенню (на 20 %) поглинальної здатності нейтрофілів, зниженню рівня циркулюючих імунних комплексів (на 40 %) та лімфоцитотоксичності (у 2 рази), що характеризувало закінчення альтерації та стимуляцію регенерації на другому етапі запальної реакції. Після впливу зеленого світла тривалість запального процесу скорочувалась на 6 діб за рахунок фази ексудації у період розлитого перитоніту. Синє світло ($\lambda = 470$ нм) на тлі ЛПС-індукованого

перитоніту оказувало найменший ефект на досліджувані імунологічні параметри на ранніх етапах запалення. А на завершальній стадії запального процесу виявили достовірне зниження показників фагоцитозу нейтрофілів – хемотаксис, адгезія і поглинальна здатність були нижчими, ніж групі порівняння (ЛПС-індукований перитоніт без світлової дії). Виявили зниження у 3 рази ступеню лімфоцитотоксичності, вміст циркулюючих імунних комплексів становив $(70,5 \pm 9,9)$ од. Е і був на рівні інтактних тварин $(69,2 \pm 6,8)$ од. Е. Застосування синього світла ($\lambda = 470$ нм) сприяло скороченню завершального етапу запального процесу на тлі поліпшення мікроциркуляції за рахунок дилатації судин під впливом імунотропного ефекту даної довжини хвилі та призводило до скорочення тривалості запального процесу на 5 діб.

Встановлено стимулюючий ефект екзосом, що містять екзометаболіти мезенхімальних стовбурових клітин, який проявлявся в збільшенні проліферативної активності *in vitro* у культурі клітин пацієнтів із хронічним запаленням. Тобто, екзосоми проявляли антагоністичну дію проти інгібіторів проліферативного потенціалу лімфоцитів пацієнтів, які мали довготривалий запальний процес.

Доведено, що наночастинки діоксиду церію малого розміру (2 нм) в концентрації 0,1 М не проявляли цитотоксичної дії, про що свідчив нормальний рівень коефіцієнту цитотоксичності (Кц) відносно контролю. А після інкубації клітин *D. viridis* з діоксидом церію максимального розміру (6 нм) тієї ж концентрації (0,1 М) спостерігали виражені цитотоксичні ефекти відносно клітин біоіндикатору. Через наявність вираженої різниці рівня цитотоксичності наночастинок з різними розмірами і концентрацією, їх використання, як антиоксидантів і стимуляторів мікроциркуляції потребує попередньої оцінки з урахуванням відповідних характеристик.

Практичне значення отриманих результатів полягає у тому, що визначено особливості вибіркової дії різних довжин хвиль на модифікацію біомолекул, на чому можуть бути засновані різні ефекти на стадіях

запального процесу. Дослідження змін механізмів імунорезистентності після дії різних довжин хвиль видимого діапазону на етапи запального процесу сприяє розробці показань до їх застосування. Виявлена активація проліферації клітин у культурі після впливу екзосом стовбурових клітин може бути вивчена та використана як індуктор репарації при запаленні. Наночастинки діоксиду церію малих розмірів у низькій концентрації, які не проявляють цитотоксичності, можуть використовуватися у вигляді цитопротекторів, антиоксидантів та активаторів мікроциркуляції при запальному процесі.

Проведені дослідження дозволили: обґрунтувати імунологічні механізми біологічних ефектів після фотоопромінювання різними довжинами хвиль на етапи запалення; оцінити дію екзосом стовбурових клітин як активаторів проліферативного потенціалу в культурі клітин та з'ясувати ступінь цитотоксичності наночастинок діоксиду церію з різними характеристиками для розробки показань до їх спільного застосування.

Ключові слова: модель запалення, вроджений імунітет, фотоопромінювання, етапи запалення, культура клітин, екзосоми, стовбурові клітини, проліферативна активність, наночастинки діоксиду церію, біоіндикатор *D. viridis*, цитотоксичність.

ABSTRACT

Bychenko K. O. The estimation of immunological mechanisms after the action of complex exogenous factors (photoirradiation, exosomes, nanoparticles) on the experimental inflammation model. – Qualification scholarly paper: a manuscript.

Thesis submitted for obtaining the Doctor of Philosophy degree in Biological Sciences, Specialty 091 – Biology. – V. N. Karazin Kharkiv National University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2023.

The dissertation is devoted to the study of the physical and biological factors mechanisms on immunoresistance under conditions of experimental inflammation induction and assessment of the cytotoxicity degree of cerium dioxide nanoparticles of different sizes and concentrations as a chemical factor for complex application in inflammatory reactions.

Biological processes in living organisms are associated with the transfer and transformation of energy, the primary source of which is sunlight. The mechanisms of the photoirradiation effect on biological objects are related to the action of molecules, changes in their conformation, and physiological activity. The most important for all living things is the formation of organic substances in the process of photosynthesis, when sunlight is converted into the energy of chemical bonds. Light promotes the activation of microcirculation in the cell and affects metabolic pathways. The effect of light on living objects has been used in practice for a long time, although there is still no consensus on the mechanisms of light effects on biological objects.

There is a problem of immunometabolic indicators correction in the chronic inflammatory reactions. According to I. I. Mechnikov's theory of inflammation (1892), inflammation is a systemic protective process that develops at all levels of the body's organization. It is of fundamental and practical interest to find out how exogenous factors (physical, chemical, biological) affect the inflammatory process. To solve this problem, many different approaches are used; there is a practice of

using various factors – physical, biological and chemical, which affect the course of the inflammatory process. As physical factors, photoirradiation with different wavelengths of the visible range of the spectrum is used, but questions remain regarding the mechanisms and level of this method effectiveness in the treatment of local and systemic inflammatory processes, since the effects of light radiation depend on the wavelength, frequency of exposure, exposure, power and energy density. Stem cells and their metabolites are also used to correct immunometabolic disorders, including for the treatment of severe metabolic dysfunctions – local and systemic inflammatory reactions. At the same time, there are few studies devoted to the study of the influence of exosomes (as a biological factor), which contain exometabolites of stem cells of various origins, growth factors and other factors of the microenvironment on chronic indolent inflammation. In addition to photo-influence, stem cells also use various nanoparticles as a chemical factor to support the redox system of cells and microcirculation. Nanoparticles of various origins (for example, graphite and others) can perform a transport function, that is, they have the ability to penetrate through biomembranes and change the functions of biomolecules. In this aspect, cerium dioxide has a number of positive effects on the metabolism of body systems. However, due to conflicting information about the cytotoxicity of nanoparticles, their use is accompanied by a constant debate about the possible mechanisms of their action on the dynamics of local and systemic inflammatory processes and biological safety, as well as the permissible doses and optimal sizes that would not have a high degree of cytotoxicity have not been determined.

Therefore, the aim of the work was to study the biological effects mechanisms and different wavelengths action at the inflammatory process stages, exosomes of mesenchymal stem cells to stimulate the proliferative potential of immunocompetent cells in the *in vitro* culture, and to determine the cytotoxicity degree of cerium dioxide nanoparticles of various characteristics using the bioindicator *D. viridis*.

The tasks of the work were:

1. Study of biological effects and mechanisms of photoirradiation of different wavelengths ($\lambda = 660 \text{ nm}$, $\lambda = 530 \text{ nm}$, $\lambda = 470 \text{ nm}$) at different stages of the inflammatory process.

2. Evaluation of the potential ability of exosomes containing exometabolites of mesenchymal stem cells to stimulate the proliferative potential of immunocompetent cells.

3. Determination of the cytotoxicity degree of cerium dioxide nanoparticles of different sizes and concentrations using the bioindicator *D. viridis* for the purpose of their practical application.

4. Evaluation of the immunocorrective effects of light exposure of different wavelengths ($\lambda = 660 \text{ nm}$, $\lambda = 530 \text{ nm}$, $\lambda = 470 \text{ nm}$) in a chronic inflammatory process.

Three experimental models were used in the work.

Model I – simulation of a long-term inflammatory process in animals. This model was used to evaluate the photoirradiation effects in animals with different wavelengths (660 nm, 530 nm, 470 nm) at all stages of the inflammatory process (infiltration, alteration, exudation and regeneration, proliferation). A multistage experiment was conducted on a large array of laboratory animals (male Wistar rats), which were divided into 5 groups. Group 1 (control) – intact animals (n = 32). Experimental peritonitis was induced in animals of groups 2-5 in order to simulate the four stages of the inflammatory reaction. Induction of the inflammatory process in animals of groups 2-5 was carried out by intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS) at the rate of 1 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ of body weight per 1 ml of isotonic solution (0.9% NaCl). Animals of group 2 with induced inflammation were used as a comparison group (n = 32). Animals of groups 3, 4, 5 (in each group n = 32) were subjected to daily photoirradiation by exposure to photonic (light emitting diode) matrices A. Korobov - V. Korobov "Barva-Flex/24FM" on the abdominal wall at the same time of the day – in the morning, before feeding; exposure time was 10 min. Animals of group 3 were irradiated with red light ($\lambda = 660 \text{ nm}$); animals of group 4 – with green light ($\lambda = 530 \text{ nm}$),

animals of group 5 – with blue light ($\lambda = 470$ nm). In the work, a preliminary assessment of changes in immune markers before and after photoirradiation with different wavelengths of the inflammatory process each stage was carried out: 1st stage – alteration; 2nd stage – exudation and infiltration; 3rd – regeneration; 4th – completion of the inflammatory process. At this stage, the activity of neutrophils in oxygen-independent and oxygen-dependent phagocytosis and the degree of lymphocytotoxicity (according to Terasaki) were studied by light microscopy. The content of circulating immune complexes (CIC), which are an antigen-antibody-complement complex, was assessed by spectrophotometry.

Model II – assessment of proliferative activity – was used to assess the possible activating effect of stem cell exosomes on the proliferative activity of peripheral blood leukocytes *in vitro* to substantiate the targeted use of exosomes with metabolites of progenitor cells. The proliferative activity of leukocytes was determined by light microscopy in the *in vitro* cultures of three variants: "A" – control culture; "B" – culture with the addition of the mitogen phytohemagglutinin; "C" is a culture with the addition of exosomes with exometabolites of mesenchymal stem cells.

Model III – estimation of cytotoxic activity of cerium dioxide nanoparticles of different concentrations and sizes (2 nm – 0.1 M; 3-4 nm – 0.2 M; 6 nm – 0.1 M) using the cellular bioindicator *D. viridis*.

Under the action of negative factors of cytotoxicity varying degrees, morphological and functional disorders of the cells were determined: changes in the cells shape, accumulation of inclusions, loss of flagella, changes in the nature and direction of movement, formation of aggregates, release of exometabolites. Changed cells were counted by light microscopy. The integral indicators of cytotoxicity were determined: the coefficient of spontaneous cytotoxicity K_{sc} (for the control culture) and the coefficient of induced cytotoxicity K_c (for the studied samples).

On the model of LPS-induced peritonitis, immunoresistance was studied at the stages of the long-term inflammatory process after exposure to different

wavelengths ($\lambda = 660$ nm, 530 nm, 470 nm). Activation of innate immunity was detected at the first stage of inflammation (infiltration) after exposure to red light ($\lambda = 660$ nm): in experimental animals with an induced inflammatory reaction, the indicators were higher than in animals of the comparison group with inflammation without photo-exposure. Green light ($\lambda = 530$ nm) led to the normalization of cellular immunity indicators and a decrease in humoral immunity indicators in the second stage of inflammation (regeneration). Blue light ($\lambda = 470$ nm) contributed to the reduction of the immunity studied indicators at the third stage of inflammation (proliferation). In each group of animals, after exposure to a certain wavelength, the duration of the stages of inflammation was reduced relative to the comparison group (animals with LPS-induced peritonitis without photo-exposure).

A pronounced stimulating effect of stem cells on proliferative activity compared to the mitogen phytohemagglutinin in the culture of leukocytes from patients with chronic inflammatory processes was revealed. The use of stem cells and their exometabolites in the form of exosomes (as a biological factor) for the transport of active cellular components can be an effective means of correcting immunometabolic disorders and stimulating regenerative processes.

As a chemical factor, nanoparticles were used, which are activators of the adapter peptides migration and have a number of positive effects on the metabolism of body systems. The potential cytotoxicity of cerium dioxide nanoparticles (as a chemical factor) of various sizes and concentrations was studied. After the addition of small-sized cerium dioxide nanoparticles (2 nm at a concentration of 0.1 M) into the *D. viridis* test system, a slight slowdown in the movement of the microalgae some cells was noted. The number of cells with altered morphology was at the control level. *D. viridis* cells did not form aggregates under the action of 0.1 M cerium dioxide nanoparticles with a size of 2 nm. The cytotoxicity coefficient (Kc) did not differ from the control. After incubation of the *D. viridis* test system with cerium dioxide at a concentration of 0.1 M with a size of 6 nm, all the test system cells acquired a deformed rounded shape, lost flagella and formed large cells clusters (macroaggregates). The

coefficient of cytotoxicity in this case was increased several times compared to the control. That is, after incubation of the *D. viridis* test system with cerium dioxide of the maximum size of 6 nm in a concentration of 0.1 M, pronounced cytotoxic effects were observed. So, research of the cytotoxicity of cerium dioxide nanoparticles with different characteristics using the cellular bioindicator *D. viridis* allowed us to identify the optimal concentration and size of nanoparticles (2 nm, 0.01 M), which did not exhibit cytotoxic effects.

Thus, the work showed for the first time that photo-exposure with different wavelengths led to different effects on the inflammation stages: from activation to inhibition of innate immunity indicators at certain stages of inflammation, which, in turn, led to a reduction in the term of the inflammatory process completion. After irradiation with red light ($\lambda = 660$ nm), activation of phagocytosis (by 30%), increased humoral reactions (an increase in the degree of lymphocytotoxicity and the concentration of circulating immune complexes by 50%), accompanied by a reduction in the first stage of the inflammatory process compared to the control (LPS-induced peritonitis without light exposure) for 9 days. Green light ($\lambda = 530$ nm) contributed to an increase (by 20%) in the absorptive capacity of neutrophils, a decrease in the level of circulating immune complexes (by 40%) and lymphocytotoxicity (by 2 times), which characterized the end of alteration and stimulation of regeneration in the second stage of the inflammatory reaction. After exposure of green light, the duration of the inflammatory process was reduced by 6 days due to the exudation phase in the period of spilled peritonitis. Blue light ($\lambda = 470$ nm) against the background of LPS-induced peritonitis had the least effect on the studied immunological parameters in the early stages of inflammation. And at the final stage of the inflammatory process, a significant decrease in the parameters of neutrophil phagocytosis was found – chemotaxis, adhesion and absorption capacity were lower than in the comparison group (LPS-induced peritonitis without light exposure). A 3-fold decrease in the degree of lymphocytotoxicity was found, the content of circulating immune complexes (70.5 ± 9.9) units E was at the level of intact animals (69.2 ± 6.8) units E. The use of blue light ($\lambda = 470$ nm)

contributed to the shortening of the final stage of the inflammatory process against the background of the improvement of microcirculation due to the dilation of blood vessels under the influence of the immunotropic effect of this wavelength and led to a reduction in the duration of the inflammatory process by 5 days.

The stimulatory effect of exosomes containing exometabolites of mesenchymal stem cells were established, which was manifested in the increase of proliferative activity in the *in vitro* cell culture from patients with chronic inflammation. That is, exosomes showed an antagonistic effect against inhibitors of the lymphocytes proliferative potential of patients with the long-term inflammatory process.

It was proved that nanoparticles of cerium dioxide of small size (2 nm) in a concentration of 0.1 M did not show cytotoxic effect, which was evidenced by the normal level of the cytotoxicity coefficient (K_c) relative to the control. And after incubation of *D. viridis* cells with cerium dioxide of the maximum size (6 nm) of the same concentration (0.1 M), pronounced cytotoxic effects were observed against the bioindicator cells. Due to the pronounced difference in the level of cytotoxicity of nanoparticles with different sizes and concentrations, their use as antioxidants and microcirculation stimulators requires a preliminary assessment taking into account the relevant characteristics.

The practical significance of the obtained results lies in the fact that the features of the selective effect of different wavelengths on the modification of biomolecules have been determined, which can be the basis of various effects at the stages of the inflammatory process. The study of changes in the mechanisms of immunoresistance after the action of different wavelengths of the visible range on the stages of the inflammatory process contributes to the development of indications for their use. The detected activation of cell proliferation in culture after exposure to stem cells exosomes can be studied and used as an inducer of repair in inflammation. Cerium dioxide nanoparticles of small sizes in low concentration, which do not show cytotoxicity, can be used as cytoprotectors, antioxidants and activators of microcirculation of the inflammatory process.

The carried out research made it possible: to justify immunological mechanisms of biological effects after photoirradiation with different wavelengths at the stages of inflammation; to evaluate the effect of stem cells exosomes as activators of the proliferative potential in cell culture and to find out the cytotoxicity degree of cerium dioxide nanoparticles with different characteristics in order to develop indications for their joint use.

Key words: inflammation model, innate immunity, photoirradiation, stages of inflammation, cell culture, exosomes, stem cells, proliferative activity, cerium dioxide nanoparticles, *D. viridis* bioindicator, cytotoxicity.