

ВЛИЯНИЕ ТАКСИФОЛИНА, КОНЪЮГАТА ТАКСИФОЛИНА С ГЛИОКСАЛЕВОЙ КИСЛОТОЙ И НАРИНГЕНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ

© 2023 г. В.С. Шубина*, #, М. И. Кобякова*, Ю.В. Шаталин*

*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Институтская ул., 3, Пущино Московской обл., 142290, Россия

#E-mail: shubinavictoria@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.08.2023 г.

После доработки 28.08.2023 г.

Принята к публикации 06.09.2023 г.

Целью работы являлось изучение влияния таксифолина, конъюгата таксифолина с глиоксалево-й кислотой и нарингенина на фагоцитоз латексных частиц нейтрофилами и адгезивные свойства данных клеток. Было показано, что таксифолин не влияет на фагоцитарную активность и адгезивные свойства нейтрофилов. Конъюгат таксифолина с глиоксалево-й кислотой значительно ингибирует фагоцитарную активность нейтрофилов. В то же время, конъюгат значительно усиливает адгезию данных клеток. Нарингенин снижает фагоцитарную активность нейтрофилов, однако, в меньшей степени, чем конъюгат. Нарингенин также ингибирует адгезию нейтрофилов. Полученные данные свидетельствуют о том, что полифенолы могут влиять на функциональную активность нейтрофилов, что может играть важную роль в модуляции воспалительного процесса, в частности когда пролонгированная активация нейтрофилов приводит к повреждению клеток и тканей собственного организма.

Ключевые слова: фагоцитоз, адгезия, нейтрофилы, полифенолы.

DOI: 10.31857/S0006302923050149, **EDN:** PNNMYB

Нейтрофилы являются наиболее многочисленной фракцией лейкоцитов, циркулирующих в кровеносном русле. Данные клетки одними из первых направляются к очагам инфекции и воспаления, где ликвидируют внедрившиеся патогены и иницируют и поддерживают воспалительный процесс. Для этих целей нейтрофилы используют различные эффекторные функции. В частности, нейтрофилы фагоцитируют патогены и клеточный дебрис, продуцируют активные формы кислорода (АФК), как снаружи клетки, так и внутри фагосом, высвобождают, так называемые внеклеточные ловушки, или NET (neutrophil extracellular traps) [1,2]. Хотя данные функции нейтрофилов важны для эффективной защиты организма от патогенов, пролонгированная активация данных клеток играет важную роль в патогенезе ряда воспалительных и аутоиммунных заболеваний [3, 4]. Например, известно, что избы-

точная продукция АФК нейтрофилами может приводить к повреждению клеток и тканей собственного организма, способствовать хронизации воспаления [2–4]. Избыточное образование NET также является фактором, провоцирующим развитие ряда заболеваний [1, 5].

Полифенолы относят к эффективным антиоксидантам, способным ингибировать образование АФК нейтрофилами как снаружи, так и внутри клетки [6, 7]. Тем не менее, мало что известно об их способности влиять на другие функции нейтрофилов, такие как фагоцитоз и НЕТОз. Ранее высказывалось предположение, согласно которому соединения, способные ингибировать АФК, способны ингибировать и образование NET, зависимое от АФК [8]. В пользу данного предположения свидетельствуют некоторые данные, представленные в литературе [8–10]. В частности, было показано, что эпикатехин, катехин, рутин, ресвератрол и кверцетин, проявляющие высокую антиоксидантную активность, способны ингибировать АФК-зависимое образование NET, индуцированное форбол-12-миристат-13-ацетатом [8–10]. С другой стороны, образование NET, вызванное отдельными стимулами, может быть не-

Сокращения: АФК — активные формы кислорода, NET — внеклеточные ловушки нейтрофилов (neutrophil extracellular traps), DfTf — конъюгат таксифолина с глиоксалево-й кислотой, кальцеин-АМ — кальцеин-ацетоксиметилловый эфир.

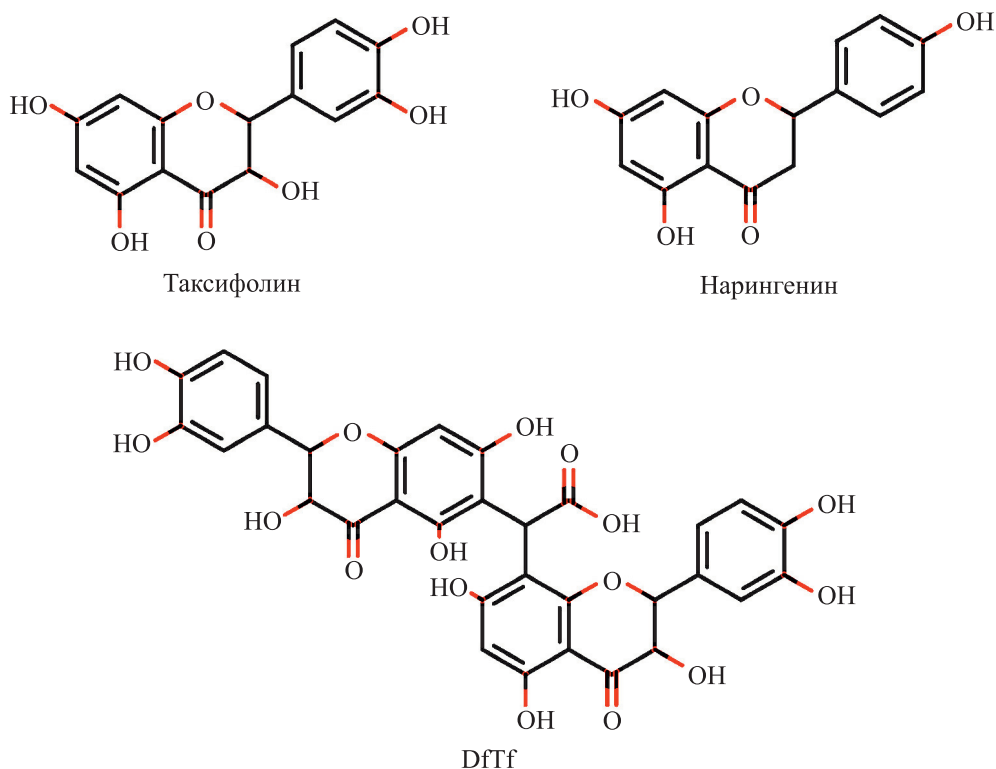


Рис. 1. Структуры исследуемых полифенолов. Конъюгат таксифолина с глиоксальной кислотой обозначен как DfTf.

зависимым от АФК [11]. Так, образование NET, индуцированное латексными шариками, опсонизированными IgG, происходило в присутствии дифенилениодоний хлорида, сильного ингибитора NADPH-оксидазы, полностью останавливающего НЕТоз, индуцированный форбол-12-мири-стат-13-ацетатом [11]. Таким образом, вопрос о том каково влияние полифенолов на АФК-независимый НЕТоз, остается открытым. Еще меньше известно о влиянии полифенолов на фагоцитарную активность нейтрофилов. Отдельные данные, встречающиеся в литературе, получены на клеточных линиях и, в целом, свидетельствуют в пользу того, что полифенолы могут оказывать как усиливающее, так и ингибирующее действие на фагоцитарную активность клеток, которое, по всей видимости, зависит от структуры данных соединений [12, 13]. Другим открытым вопросом остается влияние полифенолов на адгезивные свойства нейтрофилов. Как известно, благодаря адгезивным свойствам возможна миграция нейтрофилов из кровеносного русла к очагу воспаления и их надлежащее функционирование [14]. С другой стороны, чрезмерная адгезия нейтрофилов может приводить к повреждению собственных клеток и тканей [15].

Целью настоящей работы являлось изучение влияния таксифолина, конъюгата таксифолина с глиоксальной кислотой (DfTf) и нарингенина на

фагоцитарную активность и адгезивные свойства нейтрофилов (рис. 1). Таксифолин и нарингенин представляют собой природные полифенолы, присутствующие в продуктах питания и напитках, среди которых citrusовые и их соки, ликеры, вино и др. [16–18]. Данные соединения проявляют разнообразные биологические свойства, включая антиоксидантные, противовоспалительные и противомикробные свойства [19–22]. DfTf является продуктом конденсации таксифолина и глиоксальной кислоты и, предположительно, формируется в процессе хранения, обработки и переваривания продуктов питания и напитков, содержащих данные соединения. О формировании продуктов конденсации флавоноидов с реактивными карбонильными соединениями в продуктах питания и *in vivo* уже сообщалось в литературе [23, 24]. Глиоксальная кислота формируется в вине, где, как известно, она реагирует с катехинами, приводя к образованию пигментов катиона ксантилиа (xanthylum cation pigments). Довольно вероятно, что DfTf наряду с другими продуктами конденсации таксифолина также формируется в процессе выдержки и хранения вина. Снижение уровня таксифолина в вине со временем [18] также свидетельствует в пользу данного предположения.

Хотя реакции полифенолов с реактивными карбонильными соединениями протекают в про-

цессе хранения, старения, обработки и переваривания продуктов питания и напитков, богатых полифенолами, свойства таких продуктов и влияние данных реакций на свойства полифенольной фракции остаются мало изученными. Действие образующихся продуктов на клетки также остается в значительной степени неизвестными. В связи с вышесказанным исследование влияния DfTf на функциональную активность нейтрофилов представляет собой отдельный интерес.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Синтез конъюгата таксифолина с глиоксалевой кислотой. Синтез осуществляли по методике, описанной ранее [25]. Кратко: 148 мг глиоксалевой кислоты и 20 мкл концентрированной соляной кислоты были добавлены к 608 мг таксифолина, растворенного в 5 мл тетрагидрофурана. Смесь нагревали при постоянном перемешивании с обратным холодильником в течение 2 ч. Продукт конденсации выделяли в виде натриевой соли добавлением к смеси раствора гидроксида натрия в этаноле. Продукт отмывали холодным спиртом и высушивали под вакуумом.

Выделение нейтрофилов. Нейтрофилы выделяли из цельной крови крыс-самцов линии Wistar методом лизиса эритроцитов с последующим центрифугированием на градиенте плотности фикал–верографин (1.077/1.119) [26, 27]. Кратко: к гепаринизированной крови добавляли двукратный объем холодной (4°C) дистиллированной воды и перемешивали в течении 20 с. После этого быстро восстанавливали осмотическую концентрацию раствором добавлением двукратного раствора фосфатно-солевого буфера. Далее суспензию клеток центрифугировали при 180 g в течение 5 мин при 4°C. Осадок отмывали раствором фосфатно-солевого буфера. Полученную фракцию, обогащенную лейкоцитами, наслаивали на градиент фикал–верографин (1.077/1.119) и центрифугировали в течение 15 мин при 180 g при 4°C. Фракцию, расположенную на границе раздела фикал–верографин (1.077/1.119), собирали и дважды отмывали раствором фосфатно-солевого буфера. Далее клетки ресуспендировали в растворе Хенкса (pH 7.2) (10^6 клеток/мл). Содержание нейтрофилов во фракции составляло не менее 96%.

Оценка фагоцитарной активности. Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали методом флуоресцентной микроскопии. Для этих целей использовали латексные частицы, обладающие желто-зеленой флуоресценцией (L4530, Sigma, США), и латексные частицы, обладающие красной флуоресценцией (L3030, Sigma, США). Средний размер частиц — 2 мкм. Частицы предварительно опсонизировали иммуноглобулином IgG (I8015, Sigma, США) в течение одного часа, после

чего трижды отмывали раствором Хенкса. Исследование проводили в 96-луночных планшетах (SPL 30096, Южная Корея) следующим образом. В лунки, содержащие 100 мкл суспензии нейтрофилов в растворе Хенкса (500 тыс. кл./мл) и эмбриональную бычью сыворотку (10%), добавляли полифенолы, конечная концентрация которых составляла 100 мкМ. Затем планшеты помещали в CO₂-инкубатор на 30 мин. После этого к нейтрофилам добавляли латексные частицы и инкубировали при 37°C в CO₂-инкубаторе в течение двух часов. За 30 мин до окончания инкубации клеток с латексными шариками в среду добавляли ядерный краситель Hoechst 33342 (14533, Sigma, США) в концентрации 5 мкг/мл. В отдельных экспериментах, цитоплазму клеток окрашивали кальцеин-ацетоксиметиловым эфиром (кальцеин-AM) (206700, Sigma, США). После этого клетки однократно отмывали раствором Хенкса и фотографировали с помощью флуоресцентной многопараметрической флуоресцентной станции ImageXpress MicroXL (Molecular Devices, США). Полученные снимки обрабатывали с использованием встроенного программного обеспечения. Долю клеток, вступивших в фагоцитоз, определяли как отношение числа клеток, вступивших в фагоцитоз, к общему числу клеток. Среднее число частиц, поглощенных клеткой, определяли как отношение общего числа поглощенных частиц к числу клеток, вступивших в фагоцитоз.

Оценка адгезивных свойств нейтрофилов. После съемки клеток с помощью флуоресцентной многопараметрической флуоресцентной станции ImageXpress MicroXL клетки инкубировали с 0.25%-м раствором трипсин-ЭДТА в течение 20 мин. Затем клетки двукратно отмывали раствором Хенкса и оценивали общее число клеток, присутствующих в лунках, с помощью 96-луночного микропланшетного ридера Infinite F200 (Tecan, Австрия). Измерения проводили при $\lambda_{ex} = 360$ нм, $\lambda_{em} = 465$ нм, что позволяет регистрировать флуоресценцию, соответствующую ядерному красителю Hoechst 33342. За 100% принимали флуоресценцию нейтрофилов, не подвергавшихся каким-либо воздействиям. Количество адгезированных нейтрофилов выражали в процентах от исходного числа клеток.

Статистический анализ. Все эксперименты были выполнены трижды, в трех повторностях. Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение. Сравнение средних значений проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим попарным сравнением с помощью Тьюки теста. Для расчетов применяли статистический программный пакет GraphPad Prism 9.0.0 (GraphPad Software Inc., США). Различия считали значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки фагоцитарной активности нейтрофилы инкубировали с латексными частицами L4530 (желто-зеленая флуоресценция), опсонизированными IgG, в отсутствие (контроль) и в присутствии полифенолов (100 мкМ) в течение двух часов. Было показано, что таксифолин достоверно не влияет на фагоцитарную активность нейтрофилов, тогда как конъюгат DfTf значительно снижает ее (рис. 2). В присутствии DfTf снижается доля клеток, вступивших в фагоцитоз, и среднее число частиц, поглощенных клеткой, на 64% и 39% соответственно (рис. 2д,е). Установлено, что другой исследуемый флавоноид, нарингенин, также снижает фагоцитарную активность нейтрофилов, однако в меньшей степени, чем DfTf. В присутствии нарингенина доля клеток, вступивших в фагоцитоз, снижалась приблизительно на 25%, как и среднее число частиц, поглощенных клеткой (рис. 2д,е).

Важно отметить, что в процессе инкубации клеток с латексными шариками, опсонизированными IgG, наблюдалось формирование структур, напоминающих сеть. Данные структуры окрашивались ядерным красителем Hoechst 33342 и, предположительно, представляли собой NET (рис. 3). Как уже упоминалось, о формировании NET нейтрофилами человека в присутствии латексных шариков, опсонизированных IgG и компонентом, ранее сообщалось в литературе [11]. Интересно, что добавление в среду кальцеина-АМ приводило к дополнительному окрашиванию данных структур, что также хорошо согласуется с литературными данными, согласно которым NET окрашиваются таким красителем как Fluo-3 АМ [28]. Как известно, оба эти красителя проявляют флуоресценцию в присутствии ионов кальция после отщепления эфирной группы внутриклеточными эстеразами. Окрашивание формирующейся сети данными красителями, вероятно, говорит о том, что кальций-содержащие структуры входят в ее состав или солокализуются с ней. Примечательно, что митохондрии, являющиеся внутриклеточным кальциевым депо, также вовлечены в НЕТОз. Митохондриальная ДНК была обнаружена ассоциированной с ядерной ДНК в составе NET [29, 30]. Однако механизмы, лежащие в основе такой ассоциации, остаются невыясненными [29, 30]. Можно предположить, что митохондрии могут быть вовлечены в формирование структур, окрашиваемых вышеупомянутыми красителями. С другой стороны, нельзя исключать вклад в образование данных структур других оргanelл или компонентов клетки. Например, обширная вакуолизация эндоплазматического ретикулума, другого депо кальция в клетке, наблюдалась на ранних стадиях НЕТОза, вызванного иономицином и липополисахаридом

[30], предполагая вовлечение эндоплазматического ретикулума в данный процесс. Таким образом, природа окрашиваемых кальцеином-АМ структур, а также механизмы формирования NET остаются неясными на сегодняшний день и требуют дальнейшего изучения.

На рис. 3 приведены флуоресцентные микрофотографии нейтрофилов спустя два часа инкубации с латексными частицами L3030 (красная флуоресценция), опсонизированными IgG, в отсутствие (контроль) и в присутствии полифенолов (100 мкМ). Видно, что во всех образцах наблюдается формирование структур, напоминающих сеть. Наиболее выраженное образование данных структур наблюдается в контроле и в присутствии нарингенина. Для сравнения на рис. 3 также приведены данные о влиянии исследуемых полифенолов на фагоцитоз латексных частиц L3030 (красная флуоресценция) нейтрофилами.

В рамках данной работы также было установлено, что исследуемые полифенолы по разному влияют на адгезивные свойства нейтрофилов (рис. 4). Так, DfTf, несмотря на его ингибирующее влияние на фагоцитарную активность нейтрофилов, усиливал адгезию данных клеток к поверхности пластика, тогда как нарингенин ингибировал ее. Влияния таксифолина на адгезивные свойства нейтрофилов в условиях эксперимента выявлено не было (рис. 4).

Таким образом, полученные данные указывают на то, что таксифолин, способный эффективно ингибировать продукцию АФК нейтрофилами в ответ на различные стимулы [6, 7], не оказывает достоверного влияния на фагоцитарную активность и адгезию данных клеток. В то же время его структурный аналог нарингенин, проявляющий меньшую антиоксидантную активность [6, 7], оказывает ингибирующее действие на фагоцитоз и адгезию нейтрофилов. Это позволяет говорить о том, что влияние данных структурно близких соединений на различные функции нейтрофилов существенно отличается. При этом наблюдаемые ингибиторные эффекты указывают на противовоспалительный потенциал обоих соединений. DfTf ингибирует фагоцитоз, но усиливает адгезию нейтрофилов к пластику в присутствии латексных частиц, опсонизированных IgG, что свидетельствует о модуляции функционального ответа нейтрофилов на внедрившийся патоген. Как известно, адгезивные свойства нейтрофилов играют ключевую роль в функционировании данных клеток [14]. В частности, адгезия нейтрофилов сопряжена с секрецией различных цитокинов, способствующих инфильтрации ткани макрофагами, поддержанию воспалительного процесса [31, 32], а также активации фибробластоподобных клеток, участвующих в процессе регенерации ткани [33]. С другой

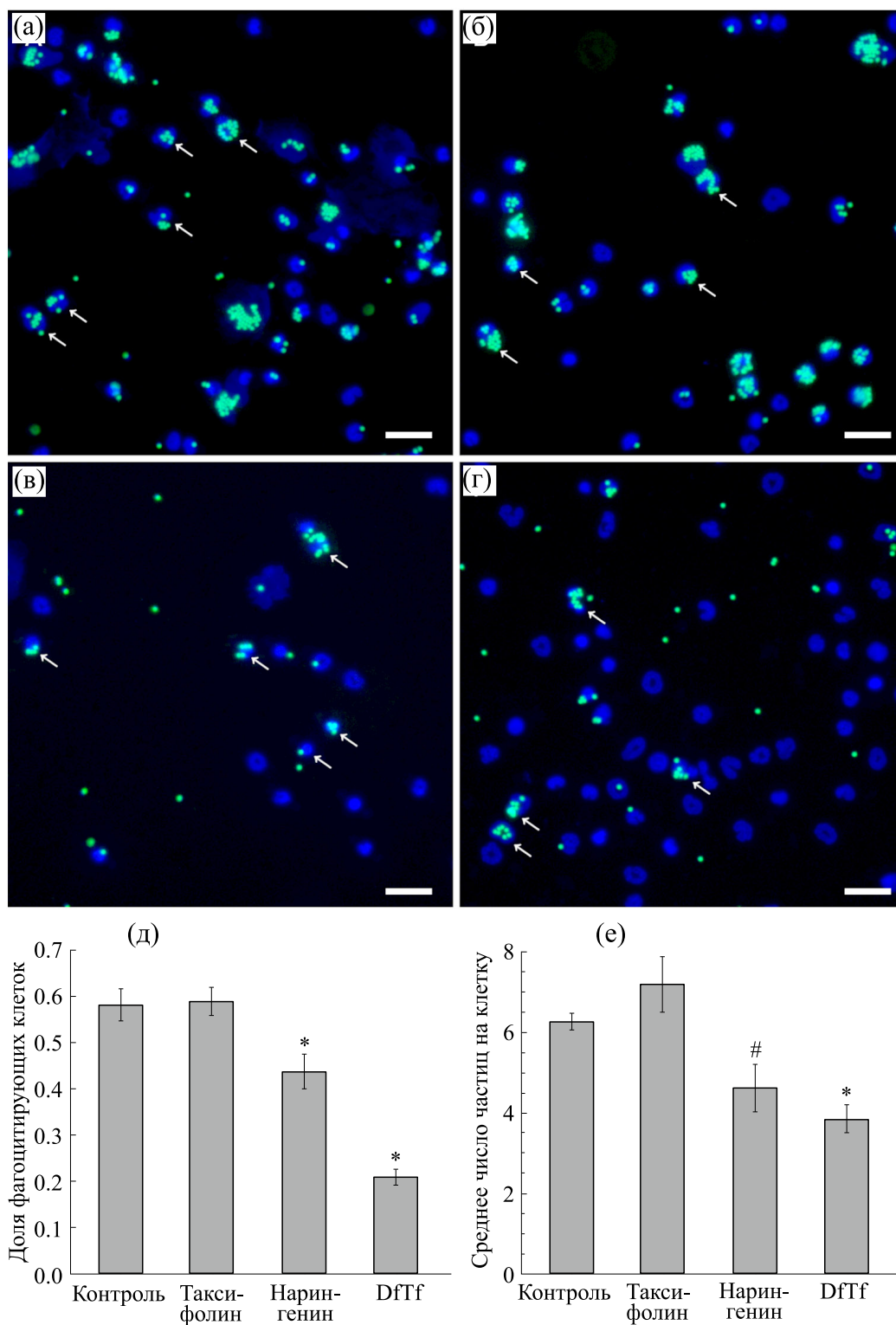


Рис. 2. Влияние исследуемых полифенолов на фагоцитоз латексных частиц L4530 (желто-зеленая флуоресценция) нейтрофилами. (а–г) Репрезентативные флуоресцентные микрофотографии нейтрофилов в контроле (а), а также в присутствии таксифолина (б), конъюгата таксифолина с глиоксальной кислотой (в) и нарингенина (г). Стрелками указаны отдельные клетки, вступившие в фагоцитоз. Масштабный отрезок 25 мкм. (д–е) Показатели фагоцитоза в контроле и в присутствии исследуемых полифенолов: доля клеток, вступивших в фагоцитоз (д), среднее число частиц, поглощенных клеткой (е). * Достоверные различия по сравнению с контролем, $p < 0.001$; # Достоверные различия по сравнению с контролем, $p < 0.05$.

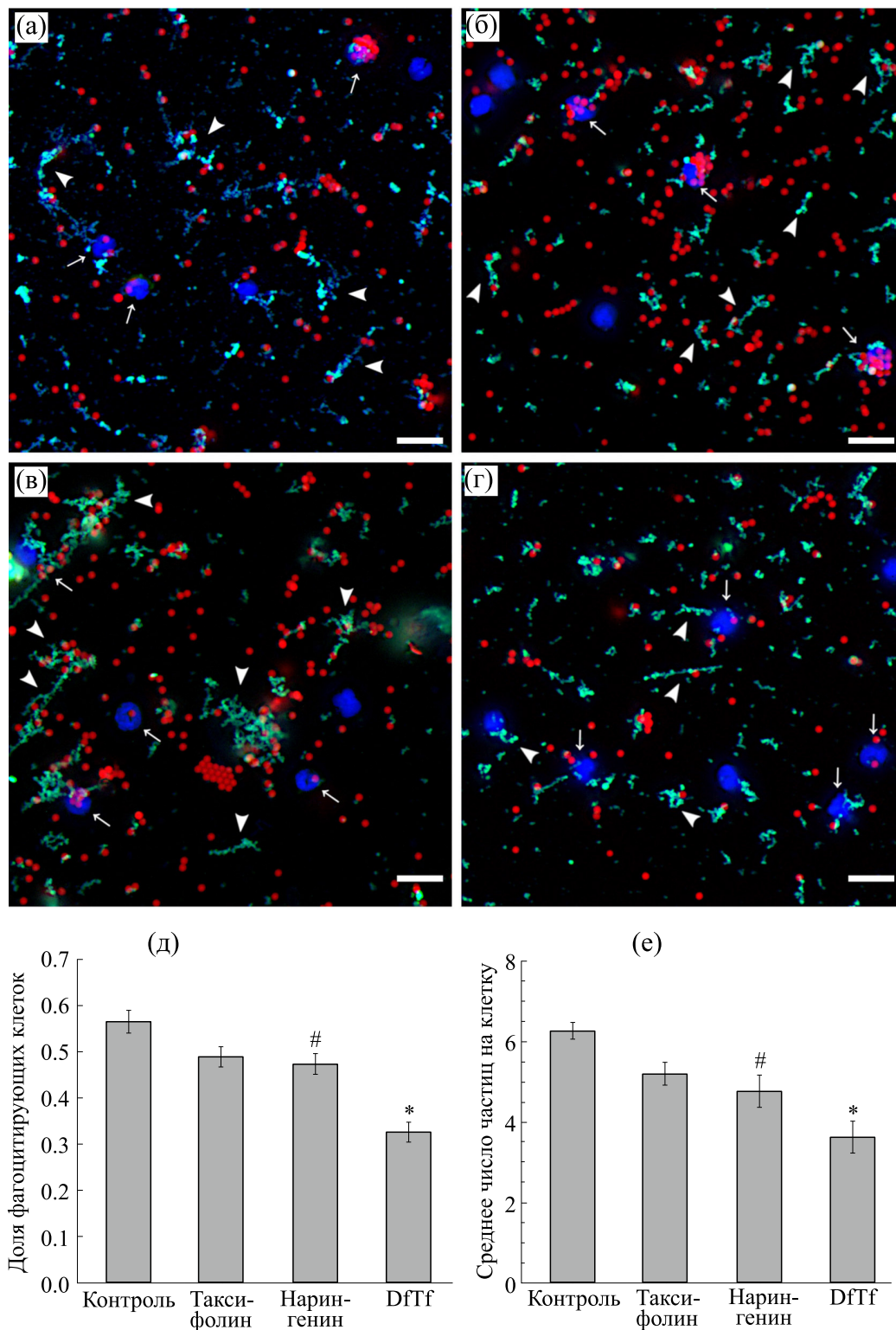


Рис. 3. Влияние исследуемых полифенолов на фагоцитоз латексных частиц L3030 (красная флуоресценция) нейтрофилами. (а–г) Репрезентативные флуоресцентные микрофотографии нейтрофилов в контроле (а), а также в присутствии таксифолина (б), конъюгата таксифолина с глиоксальной кислотой (в), и нарингенина (г). Стрелками указаны отдельные клетки, вступившие в фагоцитоз. Головками стрелок указаны структуры, окрашиваемые Hoechst 33342 и кальцеином-АМ. Масштабный отрезок 25 мкм. (д–е) Показатели фагоцитоза в контроле и в присутствии исследуемых полифенолов: доля клеток, вступивших в фагоцитоз (д), среднее число частиц, поглощенных клеткой (е). * Достоверные различия по сравнению с контролем, $p < 0.001$; # Достоверные различия по сравнению с контролем, $p < 0.005$.

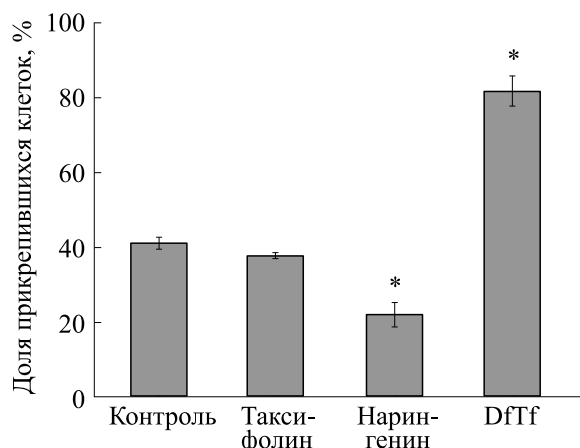


Рис. 4. Влияние исследуемых полифенолов на адгезивные свойства нейтрофилов. * Достоверные различия по сравнению с контролем, $p < 0.001$.

стороны, нейтрофилы, вносят свой вклад и в завершение воспаления, при этом их способность к адгезии также играет важную роль [32]. Принимая во внимание вышесказанное, мы полагаем, что DfTf может представлять интерес в качестве компонента новых ранозаживляющих материалов.

Важно также отметить следующее. В рамках данной работы мы впервые показали, что конъюгат таксифолина с глиоксалевой кислотой и исходный флавоноид, таксифолин, по разному влияют на фагоцитоз и адгезию нейтрофилов. Ранее мы обнаружили, что DfTf проявляет большую улавливающую активность по отношению к пероксиду водорода, чем таксифолин [25, 34]. В то же время DfTf и таксифолин оказывали сопоставимое антиоксидантное действие в бифазной системе [34]. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что свойства и биологическая активность полифенольной фракции могут существенно меняться, когда протекают реакции конденсации полифенолов с реактивными карбонильными соединениями.

В целом полученные данные указывают на то, что полифенолы способны модулировать функциональную активность нейтрофилов, что может играть важную роль в разрешении воспалительного процесса, в частности когда пролонгированная активация нейтрофилов приводит к повреждению клеток и тканей собственного организма.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена с использованием приборной базы ЦКП ИТЭБ РАН. Авторы благодарны В.Г. Заикину (ЗАО «НПФ «Флавит») за любезно предоставленный таксифолин.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-25-00149).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все манипуляции с подопытными животными проводились в соответствии с международными правилами обращения с лабораторными животными (Директива 2010/63/EU) и были одобрены Комитетом по этике ИТЭБ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Н. В. Воробьева, Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология, **75** (4), 210 (2020).
2. М. А. Челомбитко, Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология, **73** (4), 242 (2018).
3. M. Laforge, C. Elbim, C. Frère, et al., Nat. Rev. Immunol. **20** (9), 515 (2020).
4. A. Herrero-Cervera, O. Soehnlein, E. Kenne, Cell. Mol. Immunol., **19** (2), 177 (2022).
5. V. Papayannopoulos, Nat. Rev. Immunol., **18** (2), 134 (2018).
6. D. Ribeiro, M. Freitas, S. M. Tomé, et al., Eur. J. Med. Chem., **67**, 280 (2013).
7. D. Ribeiro, E. Fernandes, and M. Freitas, In *Flavonoids as Modulators of Neutrophils' Oxidative Burst: Structure-Activity Relationship. Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease* (Acad. Press, 2018), Chapter 20.
8. T. Kirchner, E. Hermann, S. Möller, et al., Mediators Inflamm., **2013**, 710239 (2013).
9. M. M. de Souza Andrade, V. N. C. Leal, I. G. Fernandes, et al., Antioxidants (Basel), **11** (9), 1690 (2022).
10. G. S. Pereira, I. Percebom, S. Mendes, et al., Braz. J. Biol., **84**, e252936 (2022).
11. M. Saffarzadeh, H. A. Cabrera-Fuentes, F. Veit, et al., Discoveries (Craiova), **2** (2), e19 (2014).
12. M. Monobe, K. Ema, Y. Tokuda, et al., Cytotechnology, **62** (3), 201 (2010).
13. S. Cui, J. Qian, P. Bo, J. Tradit. Chin. Med., **33** (6), 804 (2013).
14. G. Berton, S. R. Yan, L. Fumagalli, et al., Int. J. Clin. Lab. Res., **26** (3), 160 (1996).
15. А.А. Галкин и В.С. Демидова, Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б.М. Костюченко, **2** (2), 25 (2015).
16. R. Cannataro, A. Fazio, C. La Torre, et al., Antioxidants (Basel), **10** (2), 328 (2021).
17. A. Rødtjer, L. Skibsted, and M. L. Andersen. Eur. Food Res. Technol., **223**, 663 (2006).
18. B.F. de Simón, M. Sanz, E. Cadahía, et al., Food Chem., **143**, 66 (2014).
19. J. Cai, H. Wen, H. Zhou, et al., Biomed. Pharmacother., **164**, 114990 (2023).
20. Y. Liu, X. Shi, Y. Tian, et al., Front. Pharmacol., **14**, 1173855 (2023).
21. A. Duda-Madej, J. Stecko, J. Sobieraj, et al., Antibiotics (Basel), **11** (11), 1628 (2022).

22. D. Yang, R. Zhu, H.-X. Xu, et al., *Food Bioscience*, **53**, 102811 (2023).
23. M. Chen, H. Zhou, C. Huang, et al., *Food Chem.*, **377**, 132008 (2022).
24. M. Chen, P. Liu, H. Zhou, et al., *Front. Nutr.*, **9**, 973048 (2022).
25. V. S. Shubina and Yu. V. Shatalin, *J. Food Sci. Technol.*, **54** (6), 1467 (2017).
26. M.T. Quinn and F.R. DeLeo, *Neutrophil: Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology*, 2087 (Springer, 2020).
27. N. Beloborodova, I. Bairamov, A. Olenin, et al., *J. Biomed. Sci.*, **19** (1), 89 (2012).
28. A. K. Gupta, S. Giaglis, P. Hasler, et al., *PLoS One*, **9** (5), e97088 (2014).
29. S. Yousefi, D. Stojkov, N. Germic, et al., *Eur. J. Immunol.*, **49** (2), 221 (2019).
30. H. R. Thiam, S. L. Wong, D. D. Wagner, et al., *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, **36**, 191 (2020).
31. A. Herrero-Cervera, O. Soehnlein, and E. Kenne, *Cell. Mol. Immunol.*, **19** (2), 177 (2022).
32. Baiula, R. Greco, L. Ferrazzano, et al., *PLoS One*, **15** (8), e0237746 (2020).
33. S. de Oliveira, E. Rosowski, and A. Huttenlocher, *Nat. Rev. Immunol.*, **16** (6), 378 (2016).
34. V. S. Shubina, V. I. Kozina, and Yu. V. Shatalin, *Antioxidants (Basel)*, **10** (8), 1262 (2021).

Effect of Taxifolin, a Conjugate of Taxifolin with Glyoxylic Acid, and Naringenin on the Functional Activity of Neutrophils

V.S. Shubina, M.I. Kobyakova, and Yu.V. Shatalin

*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,
Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

The aim of the present work was to study the effects of taxifolin, a conjugate of taxifolin with glyoxylic acid, and naringenin on phagocytosis of latex beads by neutrophils and adhesive properties of these cells. It was shown that taxifolin had no effect on the phagocytic activity and adhesive properties of neutrophils. A conjugate of taxifolin with glyoxylic acid strongly inhibited the phagocytic activity of neutrophils. At the same time, the conjugate significantly enhanced adhesion of these cells. Naringenin decreased phagocytic activity of neutrophils, though to a lesser extent than the conjugate did. Naringenin also inhibited adhesion of neutrophils. Thus, the data collected during our study indicate that polyphenols may influence the functional activity of neutrophils that can play an important role in the modulation of inflammation, especially when prolonged activation of neutrophils leads to tissue damage.

Keywords: phagocytosis, adhesion, neutrophils, polyphenols