

FTAMP: 619:630:5767.8

М.Х. НАРМУРАТОВА¹, А. БАЙДУЛЛАЕВА¹, А.Е. МУРАТБЕКОВА¹,
Д.М. МӘЗБАЕВА¹, Ж.Б. НАРМУРАТОВА^{1,2*}

¹әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

²Satbayev University, Алматы, Қазақстан

*e-mail: janarka.90n@mail.ru

КОРОНАВИРУС ҚОЗДЫРҒЫШЫНА ҚАРСЫ ИММУНОМОДУЛЯЦИЯЛЫҚ АГЕНТ РЕТІНДЕ СҮТ ЛАКТОФЕРРИНІНІҢ ҚАСИЕТІН СИПАТТАУ

doi: 10.53729/MV-AS.2023.01.03

Түйін

Бұл мақалада, Қытайдың орталық қаласы Уханьдағы пациенттерде ерекше вирустық пневмонияның пайда болуына әкеліп соқтыратын жаңа коронавирустың пайда болуы CoV-тың (2019-nCoV) денсаулыққа қауіптілігі туралы жарияланды. Қазіргі COVID-19 пандемиясы барысында, вирусқа қарсы көптеген тағамдық қоспалар негізінде аурумен күресуге және алдын алуға назар аударылуда. Лактоферрин (ЛФ) - сүтқоректілердің сүтінде кездесетін табиғи тағамдық қоспалардың бірі және темірді байланыстыру қабілеті мен көптеген жасуша рецепторларымен байланысу негізінде иммуномодуляциялық қасиеттерге ие. Лактоферриннің вирусқа қарсы қабілеті SARS-CoV-2-мен (COVID-19 қоздырғышы) тығыз байланысты SARS-CoV және басқа да вирустарға қарсы бағаланды. Сонымен қатар, лактоферрин қабынуға қарсы тиімділікке ие. Лактоферриннің SARS-CoV-2-ге қарсы потенциалына арналған арнайы зерттеу жұмыстарын жүргізу өте қажет, өйткені Лактоферриннің вирусқа қарсы иммунитетке қатысты биологиялық белсенділігіне байланысты SARS-CoV-2 жасушаларын жұқтырудың алдын алады немесе кедергі келтіруі мүмкін. Лактоферриннің SARS-CoV-2-ге қарсы фармакологиялық әсерін бағалау бойынша келесі зерттеулер оның COVID-19-пен күресудегі ролін көрсетеді деп үміттенеміз.

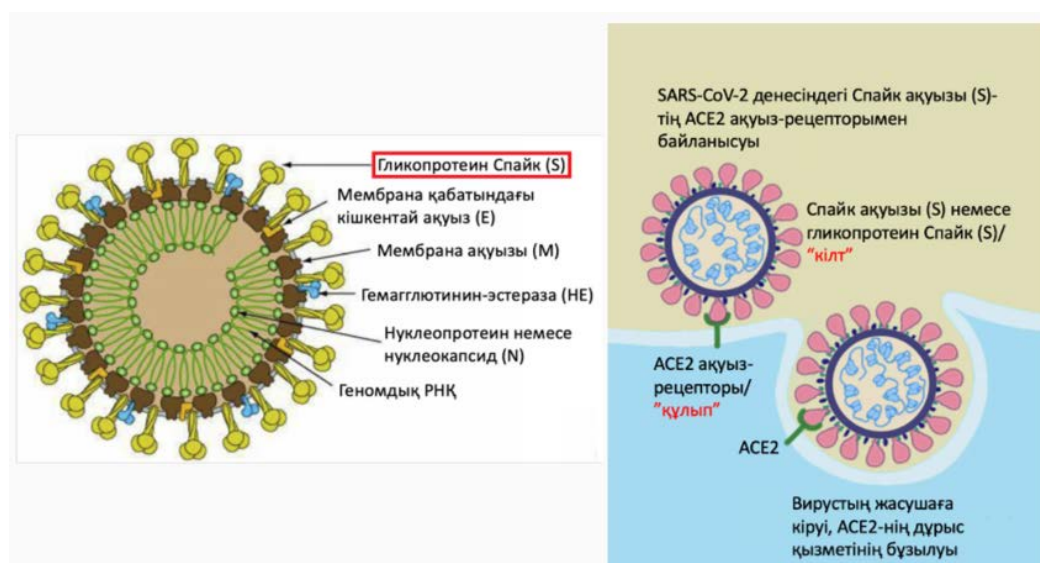
Кілтті сөздер: лактоферрин, SARS-CoV-2, COVID-19, иммуномодуляция.

Вирус – генетикалық материал мен бірнеше ақуыздан құралған дене. Тірі ағзаға ену арқылы көбеюге қабілетті, ауру тудырушы агент. Коронавирус (CoV) – *Virus* патшалығының *Coronaviridae* тұқымдасына жататын, *corona* (тәж) және *viridae* (вирус) сөздерінің бірігуінен құралған вирус түрі. CoV - адам, үй жанарлары, құс, жарғанат, тышқанның және басқа да көптеген жабайы жануарлардың тыныс алу жолдарын, асқазан-ішек, бауыр және орталық жүйке жүйелерін зақымдайды [1-3]. Ауыр жедел респираторлық синдром (АЖРС) немесе SARS (SARS - Severe acute respiratory syndrome) жұқпалы және өлімге әкелуі мүмкін респираторлық ауру. SARS - коронавирустың инфекциясының нәтижесі, оны ғалымдар SARS-мен байланысты коронавирус (SARS-CoV) деп атады. 2002-2003 жылдары SARS немесе АЖРС ауруы 5 континенттегі 33 елге таралып, нәтижесінде 8000-нан астам адам инфекция жұқтырып, 700 адам қайтыс болған [4-6], ал 2012 жылы Таяу Шығыста респираторлық синдромнан (MERS - Middle East respiratory syndrome) 2428-ден астам адам жұқтырып, 838 адам қайтыс болып, қатаң бақылауға алынды. Аталған індеттің өршуі секілді, жаңадан пайда болған CoV-та жануарлардан - адамға және адамнан-адамға жылдам таралу мүмкіндігі жағынан қатерлі індет болғандығын көрсетті [7-8]. 2019 жылы, желтоқсан айының ортасында орталық Қытайда орналасқан Хубэй провинциясына кіретін Ухань қаласының Хуанань жануар мен теңіз өнімдері базарында болған халық тұрғындары белгісіз пневмонияның өршуі бүкіл әлемнің назарын аударды. Қытайдың ғылыми зертханаларында қатаң реттілік пен этиологиялық зерттеулер жүргізу нәтижесінде, белгісіз пневмонияның қоздырғышы ретінде – жаңа коронавирус (novel coronavirus (nCoV)) анықталды (<http://virological.org/> және <https://www.gisaid.org/>). Осыдан кейін, Қытай ғалымдары коронавирустың жаңа түрін - SARS-CoV-2 деп атады. Оның генетикалық құрылымы ауыр жіті респираторлы синдромды қоздыратын SARS-CoV

вирусына 70% ұқсайтыны анықталған. 2020 жылдың 12 қаңтарында Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы уақытша жаңа вирусты 2019 жылдың жаңа коронавирусы (2019 - nCoV) деп атады [9]. SARS-CoV-2-нің негізгі таралу жолы заттардың сыртқы беті арқылы таралуы мүмкін, атап айтқанда, ауруды жұқтырған адам жөтелгенде немесе ауруды жұқтырған адамды ұстаған дене мүшесімен бетіңізді, көздеріңізді, мұрныңызды уқалаған сәтте жүзеге асады [10]. Алайда, вирустың ол жерлерде қанша уақыт өмір сүретіндігі белгісіз. Осылайша, вирус ағзаға еніп, көбейеді және басқа мүшелерге таралады. Негізгі зақымдаушы нысандары: ішек, көкбауыр және ең қауіпті әсер ететін мүшесі өкпе. Вирусты жұқтырған адамдарда құрғақ жөтел, температураның жоғарылауы, енгігу, екі жақты пневмония және басқа да белгілер, соның ішінде, тамақ ауруы, диарея мен құсудың жеңіл және ауыр клиникалық көріністері байқалады [10]. Ауырған науқастар инфекция жұқтырған адамдармен және тыныс алу тамшыларымен тығыз байланыста болуы мүмкін [11]. Вирусқа қарсы көптеген емдеу әдістері ұсынылған. Алайда, адамдарға сынақ жүргізу кезеңі бірнеше айға немесе бір жылға созылуы мүмкін [12]. Пандемиямен күресудің қазіргі әдісі - оқшаулану, жеке гигиена шаралары және дұрыс тамақтану.

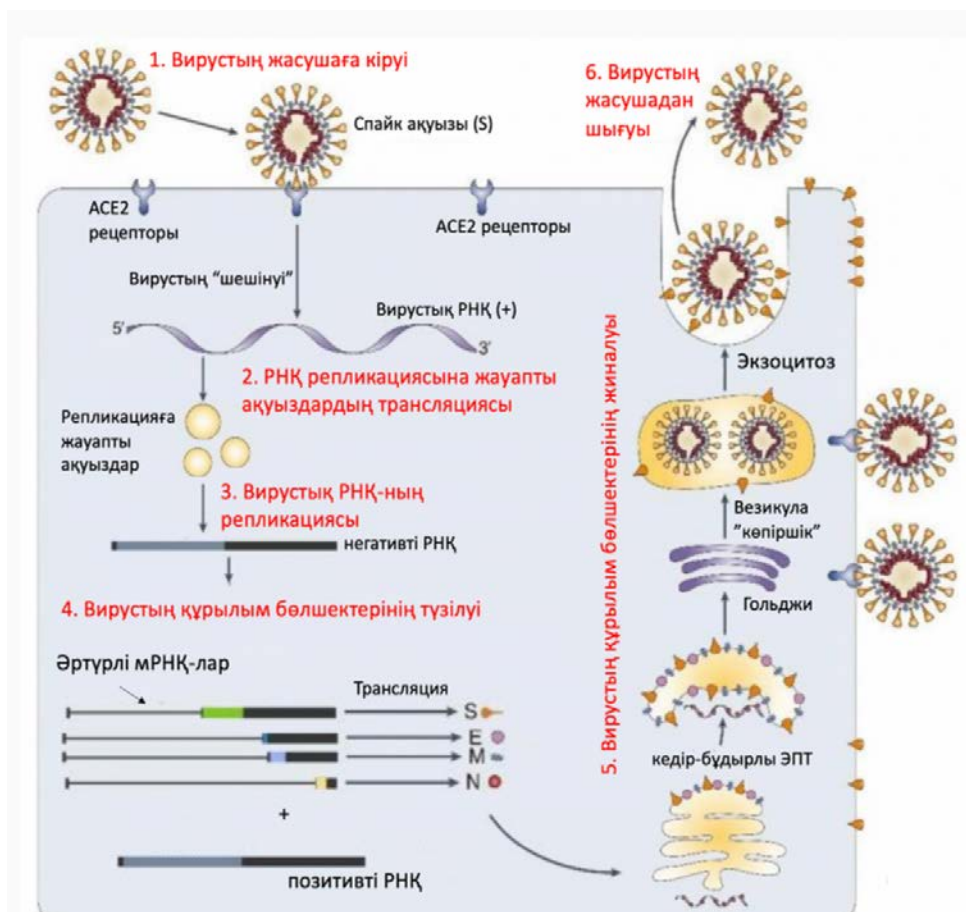
CoV-тың жаңа түрлерінің пайда болуы мен өршуі, денсаулыққа қауіпті жаһандық қатерлі індет болып табылатындығын көрсетті. Болашақта, климат пен экологияның өзгеруіне және адамның жануарлармен қарым-қатынасының күшеюіне байланысты қауіпті індет жаңадан өршуі мүмкін. Осылайша, жедел терапия мен CoV - ға қарсы вакциналар жасау қажеттілігі туындады. Әлемдік пандемияға айналдырған коронавирустық жаңа індеттің алдын алу және одан қорғануға мақалада келтірілген мәліметтер өз септігін тигізеді деп үміттеміз.

Коронавирустың жасушаға ену жолы. Коронавирустың адам жасушасына енуі келесідей этаптардан тұрады. 1. Адамның мұрын, ауыз немесе көз мүшелерімен көмегімен ағзаға енген вирус ангиотензин конвертеуші фермент 2 (ACE2) ақуыз – рецепторына қарай бағытталады (сурет 1). ACE2 - металлопептидаза, SARS-CoV-2 үшін маңызды функционалды рецепторлардың бірі. Ангиотензин конвертеуші фермент 2 рецепторы кейбір мүшелердің құрамына кіретін жасушалардың бетінде орналасады, атап айтқанда, ауыз қуысы мен мұрынның шырышты қабаты, өкпе, асқазан, аш ішек, тоқ ішек, лимфа түйіндері, айырша без, сүйек кемігі, бауыр, көк бауыр, бүйрек және мидың құрамында болатын жасушаларда кездеседі. ACE2 рецепторы өкпе альвеолының эпителий жасушаларының бетінде өте көп болады [13].



Сурет 1 - Коронавирус жасушасы мен оның ACE2 рецепторымен байланысуы бейнеленген [27]

Бірінші суретте бейнеленгендей, коронавирусы вирусы ангиотензин конвертеуші фермент 2 рецепторын жасуша бетінен танығаннан кейін, аталған рецептор мен Спайк ақуызы (S) «кілт» пен «құлып» секілді бір-бірімен берік байланысады. Кристаллографиялық зерттеулерде көрсетілгендей, құрамында S1 сегмент (318-510 амин қышқыл қалдықтары) ангиотензин конвертеуші фермент 2 рецепторы үшін маңызды рецепторлармен байланысатын аймақ [13-15]. Берік байланыс әсерінен қан қысымын реттеуге қатысатын ACE2 рецепторының қызметі бұзылады. Нәтижесінде, ангиотензин конвертеуші фермент 2 рецепторы көмегімен SARS-CoV-2 вирусы адам ағзасының жасушасына енеді [16]. Жасуша ішіне енгеннен кейін, коронавирусы вирусы сыртқы қоршап тұрған барлық құрылымдық ақуыз қабатынан босайды [15]. Жоғарыда келтірілген реттілікпен, SARS-CoV-2 өзі немесе тек геномдық РНҚ цитоплазмаға енеді. Ал, SARS-CoV вирусының РНҚ геномы ұзындығы шамамен 30000 нуклеотидті құрайды [17]. Вирустың жасуға енуінің келесі сатысында, цитоплазмаға енген вирус, РНҚ ақуызына жауапты ақуыздардың трансляциясы кезеңі басталады. Цитоплазмаға енген геномдық РНҚ репликация процесі негізінде екі еселену процесі жүреді. РНҚ репликациясын жүзеге асырмас бұрын SARS-CoV-2-қа РНҚ репликациясын жүзеге асыратын маңызды ақуыздар қажет. Аталған ақуыздарды вирустық РНҚ-ны материал көзі ретінде пайдаланып түзілуі трансляция деп аталады. Осы процесті жүзеге асыру процесінде SARS-CoV-2 вирусы қожайын жасушаны паразиттік жолмен пайдаланады (сурет 2).



Сурет 2 - SARS-CoV-2 вирусының жасушаға ену жолының схемасы [27]

Үшінші сатысы, вирустың РНҚ репликациясы жүреді. Ол, екінші кезектегі РНҚ репликациясына жауапты ақуыздардың түзілгенінен кейін вирустық РНҚ-да репликация процесі жұмыс істейді. Аталған, SARS-CoV-2 - позитивті РНҚ-лы вирустар қатарына жатады. Репликация кезеңі аяқталғаннан соң, позитивті РНҚ-дан негatifті РНҚ түзіледі.

Осыдан кейін, төртінші сатысы вирустың құрылым бөлшектерінің түзілуі басталады. SARS-CoV-2-нің негативті РНҚ-дан жаңа вирустардың құрылым бөлшектері түзіле бастайды. Негативті РНҚ-ны материал көзі ретінде пайдаланып, бірнеше мРНҚ-лар түзіледі. Нәтижесінде, мРНҚ-дан вирустың гликопротеин S ақуызы, мембрана ақуызы (М), кішкентай ақуыз (Е), нуклеокапсид (N) секілді құрылымдық ақуыздар түзіледі. Бесінші сатысында, құрылымдық ақуыздар ЭПТ-дың ішінде құрылғаннан кейін, ақуыздар мен РНҚ Гольджи аппаратына өтеді. Гольджи аппаратының ішінде құрылымдық ақуыздар мен позитивті РНҚ толық вирус ретінде бірігіп, везикула «көпіршіктердің» ішіне орналасады. Алтыншы сатысында, везикуланың ішіндегі толығымен жинақталған вирус экзоцитоз процесі арқылы жасушадан сыртқа шыға бастайды. Толық дамып жетілген вирус, басқа жасушаларға шабуыл жасайды [19-28].

Ағзаның вирусқа төзімділігі дұрыс тамақтану жүйесімен тығыз байланысты. Табиғи биологиялық белсенді заттармен байытылған тағам өнімдері ағзаға вирустық инфекциялардың қаупін азайтуы мүмкін [29]. Имунитетті жақсартуда тағам құрамындағы мұндай компоненттер В және Т жасушаларын белсенділігін арттырады және олардың көбеюіне, туа біткен және адаптивті имундық жауаптың индукциясы мен модуляциясына қатысады [30-31]. Келтірілген мәліметтер негізінде, оңтайлы тамақтану имунитеттің COVID-19-ға қарсы тұрудың бірден-бір тұрақты әдісі.

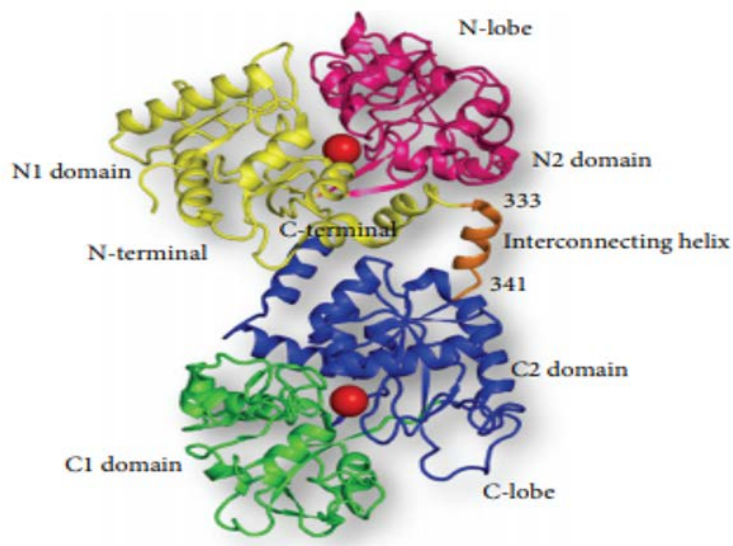
Тағам өнімдерінің ішінде сүт және сүт өнімдері құрамындағы бағалы ақуыздарымен имундық жүйеге пайдалы [32]. Эпидемиологиялық зерттеулер сиыр, бие және түйе сүтін тұрақты тұтыну адамдарда бактериялық және вирустық инфекциялардың төмен таралуымен сипатталған [33-34]. Сүттегі маңызды компоненттерінің бірі – лактоферрин (ЛФ), ол трансферриндер тұқымдасына кіретін көп функциялы ақуыз.

Лактоферрин ақуызының имунопротекторлық және қабынуға қарсы қасиеттері SARS-CoV-2 тәрізді респираторлық вирустардан қорғауды қамтамасыз ететіндігі бірқатар ғылыми мақалаларда көрсетілген [9;15;35]. ЛФ-нің COVID-19-ға қарсы имундық қорғаудағы потенциалын зерттеу үшін оның биологиясын, құрылымын, онымен байланысатын мембраналық рецепторларын, имуномодулярлық және вирусқа қарсы механизмдерін, сонымен қатар көздерін білу қажет. Ұсынылған мақалада лактоферриннің вирустарға қарсы профилактикалық, терапиялық, имунопротекторлық және механизмін қарастырып, лактоферрин ақуызының COVID-19 емдеудің қосымша әдісі ретіндегі рөлі талқыланды.

Лактоферриннің құрылымы және физика-химиялық қасиеті. ЛФ ақуызы - трансферриндер (ТФ) тобына жататын гемсіз темір байланыстырғыш гликопротеин. Лактоферрин алғаш рет 1939 жылы сиыр сүтінен (сурет 3), ал 1960 жылы ана сүтінен бөлініп алынды. ЛФ-тің аминқышқылдық тізбегі жануарлардың 10 түрінен (адам, сиыр, тышқан, жылқы, доңыз, ешкі, қой, буйвол және түйе) анықталған [36-37]. ЛФ ақуызы молекуласының ұзындығы шамамен ~700 аминқышқылы қалдығынан түзілген бір полипептидтік тізбектен тұрады. Молекулалық салмағы ~76-80 кДа. Адам мен тышқан ЛФ ақуызы бойынша бірінші реттік құрылымының ұқсастығы 70%, адам мен сиырда – 69%, сиыр мен тышқанда - 63% [38]. Адам ЛФ ақуызы бірінші реттік құрылымы адам сарысу ТФ жоғары деңгейде ұқсастыққа ие (~ 59 %). Альтернативті промоторлар - P1 және P2 - әсерінен ЛФ генінің транскрипциясы екі өнімнің түзілуіне әкеледі: мРНҚ ЛФ және дельта-ЛФ (Δ - ЛФ) [39]. Δ-ЛФ-де N-соңғы сигналдық тізбегі болмау себебінен оның ешқандай қызметі жоқ [40]. Адам ЛФ изоэлектрлік нүктесі әдебиет көздерінде 8.0-8.5 [41]; 8.7 және 9.7 аралығында ауытқиды [42].

ЛФ ақуызының полипептидтік тізбегі глобулярлы екі гомологты С және N бөліктерден құралған (сурет 3). Екі бөліктегі амин қышқылдық құрамының ұқсастығы 37% - ға жуық. N бөлігі, полипептидтік тізбектің N-соңын (1-332 амин қышқыл қалдықтары), С бөлігі С-соңын (345-691 амин қышқыл) құрайды. Олар қысқа альфа-спиральмен (333-344 амин қышқылы) байланысқан, осы байланыс молекулаға қосымша серпімділік қасиет береді [37]. Әр бір бөлік эллипсоид пішінді, көлемдерінің реттілігі 55×35×35 Å. Ақуыз

молекуласы симметриялы емес, себебі бөліктер бір-біріне $\sim 150^\circ$ бұрышта бұрылыс жасаған және $25\text{\AA}$ ығысқан. Әрбір бөлік өз кезегінде екінші реттік құрылымы өте ұқсас екі доменнен тұрады [37; 43]. Молекула $\approx 43\%$ α - спиральдан және $\approx 27\%$ β - қатпардан тұрады. Акуыз құрылымында 16 дисульфидтік байланыс бар, оның 6 жұбы екі бөлікте тең, ал қалған 4 жұбы C-бөлігінде орналасқан. Ірі қара лактоферрин акуыз молекуласының жалпы схемесы үшінші суретте келтірілген.



Сурет 3 - Ірі қара лактоферрин акуызы молекуласының схемасы

N1 және N2 домендері сәйкесінше сары және қызғылт, ал C1 және C2 домендері сәйкесінше жасыл және көк түстермен, ал бөліктер (лоб) арасындағы өзара байланысты спираль қызғылт сары түсті, екі темір атомы қызыл шар түрінде көрсетілген [44]

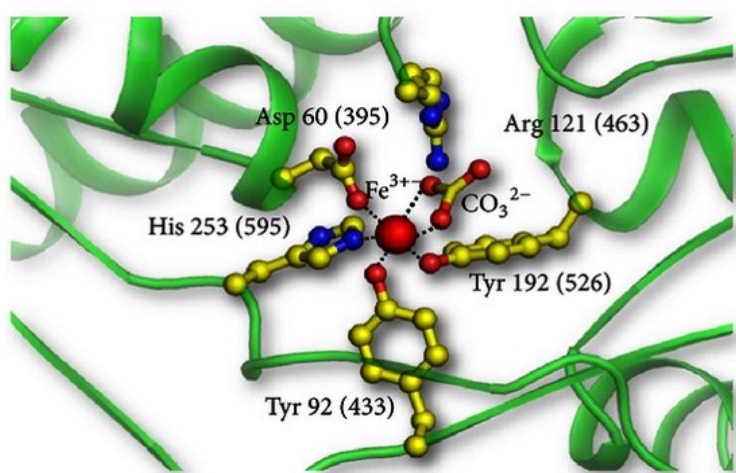
ЛФ екі түрлі формада кездеседі: апо (темірмен қанықпаған акуыз) және холо (белсенді орталығында Fe^{3+} бар) болады. ЛФ акуыз молекуласы Fe^{3+} екі ионымен кері байланысуға қабілетті. Әрбір бөліктегі домендер (N1, N2 және C1, C2) аралығындағы тереңірек аймақта темір - байланыстырушы сайттар бар, олардың көлемі $\sim 42\text{\AA}$ құрайды. Темірдің әрбір атомы төрт акуыздық лигандпен үйлестірілген: Туг-92 және Туг-192 фенолят-иондардағы (сәйкесінше Туг - 435 және Туг - 528 C-соңында) екі оттегі атомдарымен, His - 253 (His - 597) имидазолдағы Nε2 азот атомымен және Asp-60 (Asp-395) карбоксильдегі оттегімен. Темірдің әрбір атомының октаэдрлік ортасы бар, дегенмен де, төрт акуыз лигандты алты позицияның тек төртеуін ғана алып жатады. Зерттеулерге сәйкес қалған екі позицияда CO_3^{2-} немесе HCO_3^- аниондары орналасады [37; 43].

ЛФ-тің темірмен байланысу схемасы көрсетілген (сурет 4). Темір атомы қызыл шар түрінде бейнеленген, ал ЛФ-тің өзара әрекеттесетін аминқышқылдарының қалдықтары сары түсті. Қалдық сандар N-соңына сәйкес келеді, ал C-соңының тиісті аминқышқылы қалдықтары жақшада орналасқан [44].

Анион пептидтің оң зарядталған N-соңымен және Arg-121 радикалымен байланысады. Мутагенез бойынша жасалған тәжірибиелерде, белсенді орталықтағы кез келген 4 қалдығының алмастырылуы темірді байланыстыру қабілетінің бірден нашарлауына алып келетіндігі дәлелденген. Arg-121 қалдық бойынша мутация да дәл осындай әсерге алып келеді [38; 43].

ЛФ акуызына темір берік әрі қайтымсыз ($K_d \sim 10^{-20} \text{ M}^{-1}$) байланысады. ЛФ акуызы темірді тіпті бәсекелес лиганд (мысалы, цитрат) және pH мәні 3,0 болған жағдайда да байланыстыруға қабілетті, ал ТФ тобының басқа акуыздары pH $\sim$ 5.5 болғанда темірді босатады [37]. ЛФ мен ТФ әртүрлі қасиеттері ЛФ-ғы екі бөліктің (лобтың) үйлесімді байланысымен анықталады [38]. ЛФ C-бөлігіне темірдің байланысуы N-бөліктегі оның

(темірдің ақуызға) байланысын анағұрлым тұрақтандырады. Мұнда N-бөлікпен қатынасатын C-соңындағы альфа-спираль маңызды қызмет атқарады. ТФ-де осы құбылыстың болмауы ЛФ-гі екі бөлікті байланыстыратын пептид құрылымындағы ерекшелікпен түсіндіріледі. Барлық сипатталған ЛФ осы пептид альфа-спираль түзеді, ал ТФ-да оның әлсіз, түзу, ретсіз құрылымы болады. Альфа-спиральдің мықтылығы екі бөліктің тығыз байланысуын қамтамасыз етіп, N-бөлікке темірдің байланысуын тұрақтандырады. Нәтижесінде, темірдің босап шығуына (ЛФ-дан) әсер етіп рН мәнін төменгі шекке қарай ығыстырады. ТФ молекуласында лизиннің – Lys-206 және Lys-296 – қалдықтарының болуы ЛФ және ТФ қызметтеріндегі айырмашылығына себепші болуы мүмкін. Осы екі қалдық ерекше сутектік байланыс түзеді. Адам ЛФ ақуызы Arg-210 және Lys-301 осы жұп қалдықтармен алмасқан. Дегенмен, сиыр, буйвол, жылқы және түйе ЛФ ақуызында ТФ-ғы позицияға ұқсас лизиннің екі қалдығы болады – Lys-2010 және Lys-301. Алайда, осы екі қалдық арасында байланыс түзілмейді, сәйкесінше ақуыздардан ерекшелік байқалмайды [37-38].



Сурет 4 - Лактоферриннің темірді байланыстыру схемасы [26]

Темірдің ақуызбен байланысуы және босап шығуы ЛФ ақуызында құрылымдық өзгерістерге алып келеді [37]. ЛФ ақуызы ашық құрылым жағдайында темірмен байланысады: ең алдымен анионмен байланысып, нәтижесінде лигандтардың ығысуына алып келеді. Сосын, темір ЛФ ақуызы молекуласымен толық байланысып, ары қарай ЛФ өте ықшам құрылымдық пішінге, яғни жабық құрылымдық пішінге ауысады. ЛФ ақуызының апо-формасы металлдардың басқа да иондарымен байланыса алады, әдетте жоғары оң зарядты иондар (Cr^{3+} , Co^{3+} , Mn^{3+} , Al^{3+} , Ga^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , лантаноидты иондары) [37-38]. Аталған металл иондары ЛФ ақуызына Fe^{3+} байланысатын амин қышқылдар арқылы байланысады. Сонымен қатар, ЛФ ақуызының пептидті тізбектің учаскелері көмегімен 70 дейін Fe^{3+} иондарын байланыстыра алатындығы зерттеулерде көрсетілген [45]. Нәтижесінде, ЛФ ақуызы 15-16 молекулаларынан тұратын зат түзіледі. Осы зат нативті ақуызға қарағанда тұрақтылығы өте жоғары. Тұрақтылықтың жоғарлауы осы заттағы әртүрлі ЛФ ақуызы молекулаларының құрамында болатын Fe^{3+} және HCO_3^- иондарының арасындағы электростатикалық байланысқа негізделген [37].

ЛФ ақуызы глобулярлы гликопротеин [39]. Көмірсу фрагменті ақуызбен аспарагиннің (Asn-137 және Asn-490) амидті азоты арқылы гликозидтік байланыс түзеді. ЛФ құрамындағы гликозидтік байланыстардың саны және орналасуы жануарлардың түрлеріне байланысты ауытқиды [37; 39]. ЛФ-нің көптеген функциялары оның әркелкі таралған беттік зарядымен анықталады. Оң зарядталған үш аумақты бөліп көрсетуге болады: N-

соңында (1-5 қалдықтар), бірінші альфа-спиральде (12-31 қалдықтары) және екі бөлік аралығында. Адам ЛФ-нің N-соңындағы GRRRR сигналдық тізбегі осы ақуыздың ядроға енуін қамтамасыз етеді. Осылайша, ол транскрипциялық фактор ретінде қызмет атқарады. Жоғарыда келтірілген сигналдық тізбек тек адам ЛФ тән, басқа жануарларда болмайды [37].

Лактоферриннің кездесетін көздері. ЛФ ақуызы әртүрлі сүтқоректілердің шырышты эпителий жасушаларынан бөлінеді [46-50]. ЛФ ақуызы барлық экзокринді бездер сөлдерінен: көз жасында (2 мг/мл [41; 46-50] немесе 0,4 мг/мл), сілекей (0,013 мг/мл), назальді және бронх, өт сөлдерінен (0,0042 мг/мл), панкреатит сөлінен, ұрық сұйықтығынан (0,518 мг/мл), зәр (0,00005 мг/мл), тер (0,0025 мг/мл) анықталған. ЛФ өте көп мөлшерде сүтте (1,28 мг/мл) және уызда (7 мг/мл немесе 3,2 мг/мл) кездеседі [37; 51]. Сүттегі казеиннен кейінгі ең кең таралған ақуыз. Сиыр сүтінде ЛФ концентрациясы лактация кезеңіне, сиыр тұқымына байланысты 31,78 - 485,63 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ -ге аралығында өзгереді [51], ал оның уыздағы концентрациясы 1-5 mg/mL . Сонымен қатар, түйе сүтіндегі лактоферрин концентрациясы 20-2100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ [52-53] құрайды [30]. Зерттеулер көрсеткендей, түйе сүтінің лактоферрині қалыпты сүтте 0,02-ден 7,28 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ -ге дейін өзгереді, бірақ лактоферриннің максималды мөлшері төлдегеннен кейін шамамен 48 сағатта 2,3 g.L^{-1} мөлшерді құрайды [54]. Ірі қара мал мен адам ЛФ-нің биологиялық белсенділігі ұқсас болғандықтан, лактоферрин ақуызының қолжетімді көзі ретінде жануарлар сүтін пайдалануға мүмкіндік береді. Сүт бездерінде ЛФ ақуызының бөлінуін (транскрипция және трансляция) пролактин бақылайды, ал жыныс жолдарында ЛФ ақуызы экспрессиясын стероидты гормон – эстроген индидуцтейді. Қан түзілу жүйесінде ЛФ миелоциттердің пісіп-жетілу сатысында дамып жатқан нейтрофилдерде экспрессияланады (синтезделеді) [37]. Нейтрофилдердің екіншілік түйіршіктерінде қорға жинақталады. Олардағы ақуыздың мөлшері нейтрофилдердің 15 $\text{мкг}/10^6$ құрайды [40]. Сонымен қатар, ЛФ қаннан (0,001 мг/мл) және амнион сұйықтығынан (0,006 мг/мл) анықталған. Қандағы қалыпты мөлшері шамамен 1 $\text{мкг}/\text{мл}$, дегенмен қабыну кезінде оның мөлшері 200 $\text{мкг}/\text{мл}$ дейін жетуі мүмкін [37].

Лактоферриннің үш түрлі изоформасы белгілі, оларға альфа ЛФ (LF- α), бета ЛФ (LF- β) және гамма ЛФ (LF-g) жатады. LF- α темірді байланыстырады, бірақ қалған екі изоформалар LF- β және LF-g темірмен байланыспайды [55-57].

Лактоферриннің иммуномодуляциялық әсері. ЛФ ақуызының мембраналық рецепторлармен байланысу механизмі, оның биологиялық белсенділігін көрсетеді. ЛФ келесі рецепторлармен байланысады: TLR2, TLR4 [58], CD14 [59], цитокинді рецепторлар [60] және Intelectin-1 [61]. Бұл рецепторлардың барлығы жасушалар мен тіндердің көптеген түрлерінде, соның ішінде лимфоциттерде және ішек эпителий жасушаларында кездесетіндігі туралы айтылған [62]. ЛФ ақуызының рецепторлармен байланысу қабілеті оның вирусқа қарсы иммунитетті жоғарылату мен ағзаның қорғаныс механизмі үшін маңызды. ЛФ ақуызы өзінің иммуномодуляциялық белсенділігін инфекциялық молекулалармен бәсекеге түсу арқылы жүзеге асырады, осылайша бөлшектердің қосылуын тежейді [63]. ЛФ ақуызының ерекшелігі, гепаран сульфаты протеогликандарымен (HSPGs) байланысады, оны SARS-CoV және адамның коронавирустық NL63 жасушаға бекіту және енгізу рецепторы [6; 64]. SARS-CoV-2 өзінің функционалды рецепторы ретінде ACE2-ді қолданады, бірақ гепаран-сульфатты протеогликандармен (HSPG) байланысуы мүмкін, өйткені SARS-CoV екі рецепторды да байланыстыратындығы анықталған, алайда SARS-CoV-2 үшін HSPG-ді қолдану туралы зерттеулер толық дәлелденбеген. Эпителий жасушалары зиянды заттардың енуіне кедергі келтіретін алғашқы физикалық тосқауыл болып саналады және туа пайда болған иммунитетте маңызды рөл атқарады [65].

ЛФ ақуызы иммундық жүйеде және инфекция мен қабынудың қорғаныс жүйесінде маңызды рөл атқарады [61]. Оның кейбір иммуномодуляциялық әсерлері липополисахаридті (LPS) кешендерге негізделген. ЛФ ақуызы вируспен байланысқан LPS-пен байланысады, осылайша вирустың жасушаға енуіне жол бермейді, бірақ вирус жасушаға енген болса, ол гранулоциттер мен макрофагтар сияқты киллер жасушаларды

ынталандыру арқылы вирустың көбеюін тежейді [65]. ЛФ ақуызы цитокиндер/химокиндер мен пероксидтер өндірісін реттеуге [66-67], иммундық жасушаларды, атап айтқанда макрофагтарды, нейтрофилдерді, базофилдерді, эозинофилдерді, мастоциттерді және дендриттік жасушаларды белсендіруге және пролиферациялауға қатысады [35]. Жасушалардың фагоциттік қабілеті ЛФ ақуызының белгілі бір байланыстырушы сайттарды тану арқылы модуляцияланады [68].

Ядроға жеткізілген ЛФ ақуызы ДНҚ-мен байланысады және әр түрлі сигнал беру жолдарын белсендіреді [41; 69]. ЛФ-нің ісік некрозы альфа - факторы және интерлейкин (IL) -1, IL-2 және IL-6 сияқты қабынуға қарсы цитокиндерді тежеу белсенділігін интерферонгамма арқылы анықталған. Сонымен қатар, жасушалық деңгейде ЛФ қанның полиморфты ядролық жасушаларын қабылдауды күшейтеді және миелопоэтикалық процесті ынталандырады [41]. Сондай-ақ, созылмалы ауруларда ЛФ перифериялық қандағы Th1 цитокин профилін жоғарылатады [70].

ЛФ-нің деградациясы нәтижесінде алынған лактоферрицин пептиді, қабыну процесінің басталуын шектейді, IL-10 өндірісін күшейтеді, осылайша Th2 (қабынуға қарсы) тәрізді белсенділігін ынталандырады. ЛФ интерференциясы фибробласт генінің экспрессиясы арқылы пайда болады, ақуыз өндірісін модуляциялайды және жасушадан тыс матрицаны өзгертеді, осылайша иммундық жасушалардың қозғалғыштығын арттырады [71].

Лактоферрин ақуызының вирусқа қарсы әсері. ЛФ ақуызы вирусқа қарсы қасиеті адам мен жануарларды инфекциялайтын РНҚ және ДНҚ-вирустардың көпшілігіне кедергі келтіреді. ЛФ ақуызы вирустарға қарсы әсерінің екі түрі белгілі. Біріншіден, қожайын жасушамен вирустың байланысу сатысын тежеуі мүмкін, мысалы герпес, В гепатиті, адамның цитомегаловирусы, адено-, рота- және полиовирустар. Екіншіден, зақымдалған жасушаларда вирустың репликация процесін тежейді (С және G гепатиті, ЖИТС). Зақымдалу процесінің алғашқы сатысында ақуыз вирусқа қарсы әсер көрсете алады [37].

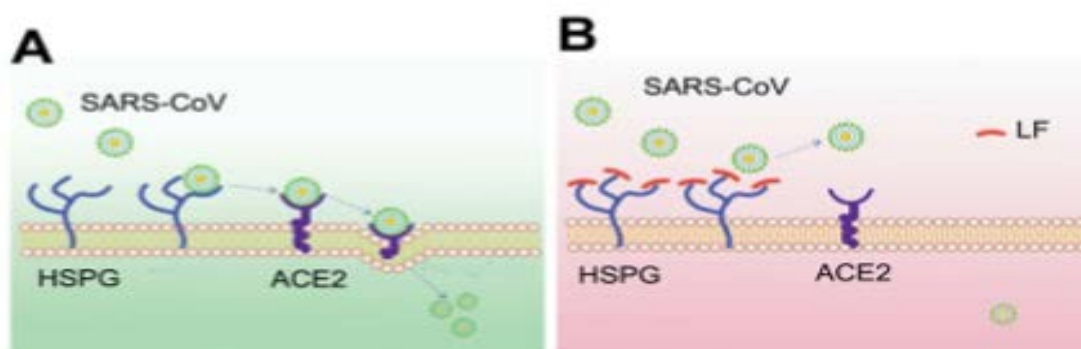
ЛФ ақуызы вирустық инфекцияны ингибирлеуі қожайын жасушамен вирустың байланысуына кедергі келтіру әсерімен түсіндіріледі, болжам бойынша, оған жасушаның беткі жағында орналасқан молекулалар қатысуы мүмкін. Глюкозамингликондар, негізінен гепаран сульфаттар, сүтқоректілер жасушаларының беткі жағында болатын өте күшті аниондар, себебі оларға жоғары дәрежеде сульфаттану тән. Өте көп мөлшерде теріс зарядтың болуы нәтижесінде глюкозамингликондар катиондармен, ақуыздармен, ферменттермен, цитокиндермен, хемокиндермен, липопропротеиндермен, сонымен қатар әртүрлі патогендермен және вирустармен байланысуын қамтамасыз етеді. Кеңінен таралған әрі зерттелген механизмге сәйкес, ЛФ ақуызы гепаран сульфатпен байланысып, вирустың жасушамен алғашқы қатынасуына кедергі келтіреді және оның зақымдануынан қорғайды [41].

Көптеген зерттеулер, соның ішінде *in vitro* жүргізілген зерттеу нәтижесі көрсеткендей, адам қанындағы және сүтіндегі барлық ақуыздардың ішінде тек ЛФ ақуызы ғана ЖИТС - ке қарсы әсері өте жоғары. Бұл құбылыс қожайын жасуша ішінде вирус репликациясын ингибирлеу қасиеттеріне негізделген [37]. Басқа зерттеулер нәтижесіне сәйкес, ЛФ ақуызының апо-формасы ротавирустың бөліктерімен байланысып, гемаагглютинацияға және жасуша рецепторларымен вирустың қатынасқа түсуіне кедергі жасайды [68]. ЛФ ақуызының осы антивирустық белсенділігі ақуыздың Fe^{3+} , Fe^{2+} иондармен, сонымен қатар Mg^{2+} және Zn^{2+} сияқты екі валентті металл иондарымен қанығуы артқан сайын төмендейді. Соңғы зерттеулер нәтижесіне сәйкес (2009), аденовирустың нейтрализациясына ЛФ вирустың құрылымдық III және IIIa ақуыздарымен тікелей байланысуы ықпал етеді [69]. ЛФ ақуызы сонымен қатар жасушадағы нақты бір вирустардың интернализациясын бұғаттайды. Бұған поливирус тип I, қарапайым герпес тип I және IIb цитомегаловирус жатады [36].

ЛФ ақуызы қожайын жасушаның қорғаныс молекуласы ретінде өте маңызды және оның физиологиялық белсенділігі қабынуға, бактерияға, вирусқа қарсы, антиоксидантты,

иммуномодуляциялық, анти-карциногенді, антипротозоанды және саңырауқұлақтарға қарсы [36]. Зерттеулерге сәйкес ЛФ ақуызының темірді ұстап қалу қабілеті иммундық жасушалардың қозғалғыштығын модуляциялауда және патогенді микроорганизмдердің өсуін тежеуде де тиімді [51].

Коронавирус және лактоферрин. SARS-CoV инфекциясы кезінде қожайын жасушаның (ағзаның) вирусқа қарсы иммундық реакциясы басталады. Туа пайда болған иммундық жауап вирустық инфекцияны тежеуде маңызды рөл атқарады. SARS-CoV вирусына қарсы туа пайда болған иммундық жауапты белсендендіруге ЛФ ақуызының әсері болатындығы айтылған [11]. ЛФ ақуызы SARS-CoV инфекциясы кезінде NK жасушаларының белсенділігін арттырып, нейтрофилдердің агрегациясы мен адгезиясын ынталандыратынын көрсеткен. Алайда ЛФ ақуызының биологиялық белсенділігі толық зерттелмеген.



Сурет 5 - SARS-CoV жасушаға енуінің моделі және SARS-CoV инфекциясындағы лактоферриннің қорғаныш рөлі [15]

(А) Жасушаға SARS-CoV ену процесінде HSPG-лер маңызды рөл атқарады. HSPG-мен байланысу алаңдары SARS-CoV мен қожайын жасуша арасындағы алғашқы байланысуына мүмкіндік береді. SARS-CoV вирусы HSPG және ACE2-мен байланысуы арқылы жасуша мембранасына бекітіліп, ағзаға нақты кіру рецепторларын (ACE2) іздейді, осылайша жасушаға енеді. (В) ЛФ ақуызы HSPG-мен байланысуы арқылы SARS-CoV инфекциясын блоктайды. ЛФ ақуызы жасуша бетіндегі HSPG-ге орналасады және вирус пен қожайын жасушалары арасындағы алдын-ала өзара әрекеттесуге және кейінгі ішкі процестерге жол бермейді [15].

Вирустар әдетте жасуша мембранасында ортақ молекулаларды жасушаларға енуін жеңілдету үшін пайдаланады. Бұл молекулалар, соның ішінде гепаран сульфатының протеогликандары (HSPGs) жасуша бетіндегі алғашқы вируспен байланысу аймақтарын қамтамасыз етіп қожайын жасушаға еруге алғашқы байланыс орнатуға көмектеседі [38]. ЛФ ақуызы көптеген жасушаларда болатын HSPGs-пен байланыстыру арқылы кейбір вирустарды ағзаның ішкі жасушаларына енуіне кедергі келтіретіндігі көрсетілген [39].

ЛФ ақуызының бұл қасиеті қожайын жасушаны немесе ағзаны вирустық инфекциялардан қорғайды. Осы тұжырымдарға сүйене отырып, ЛФ ақуызының SARS-CoV-ге қарсы тағы бір әсері оның қожайын жасушаларында кең таралған HSPGs-молекуласымен байланысуымен болжанады. Жоғарыда келтірілген мәліметтерде, SARS псевдовирусының жасушаға ену процесінде жасуша бетіндегі ACE2 мен HSPGs рецепторлары маңызды рөл атқаратындығын көрсетелген (сурет 5). ЛФ ақуызы SARS псевдовирус инфекциясын ACE2 мен HSPGs-пен байланысу арқылы бұғаттай алады, бұл SARS-CoV шабуылынан қожайын жасушаның иммундық жүйесінде қорғаныс рөлін атқара алады деп болжайды.

COVID-19 пандемиясымен күресу әдістері шектеу мен гигиеналық шараларды сақтаумен қатар, вирусқа қарсы препараттар мен вакциналар табылғанымен, әлі де жан-

жақты зерттеуді қажет етеді. ЛФ ақуызы тағамдық қоспа ретінде вирустарға, соның ішінде, SARS CoV-ға қоса алғанда, кең ауқымды вирустарға қарсы пайдалану мүмкіншілігі зерттелген. Аталған зерттеу жұмыстары бір туысқа жататын SARS CoV-2-ге жақын болуымен қызықты [9; 15]. SARS-CoV және SARS-CoV-2 тізбектерінің ұқсастығы 79% құрайды және олардың рецепторлармен байланысатын домен құрылымы да өте ұқсас. Сонымен қатар, ЛФ ақуызы тышқан-коронавирусындағы жасуша бетіндегі гепаран сульфаты протеогликандарымен (HSPGs), адамның коронавирусы hCoV-NL63 [64] және SARS-CoV [15] байланысуы вирустың белсенділігін тежейді. Бірақ, SARS-CoV-2 қожайын жасушаларына енуіне ЛФ ақуызының әсері туралы дәлелденген зерттеулер жоқ [65]. Кейбір науқастарда COVID-19 өлімі тек вирустық инфекцияға байланысты емес, гипер қабыну және цитокиндік ауру синдромымен де байланысты, бұл жедел респираторлық күйзеліске және одан кейін өлімге әкеледі [72]. COVID-19 ауыр жағдайларында цитокиндер мен интерлейкин IL-6, ісік некрозы факторы (TNFα) және ферритин деңгейінің жоғарылауы байқалады [65]. ЛФ ақуызы вирустық инфекцияға қарсы иммундық және қабыну реакциясын модуляциялауы мүмкін, сондықтан ЛФ ақуызы COVID-19 ауыр жағдайларын қосымша емдеуге негіз бола алады.

Қорытынды

Сүттің ЛФ ақуызы маңызды тағамдық қоспа ретінде вирустық шабуылдарға қарсы тиімді, көптеген вирустық бөлшектермен немесе вирустық рецепторлармен байланысып, иммундық жүйені жақсартуға көмектеседі. Сонымен қатар, иммуномодуляциялық, қабынуға және вирусқа қарсы ерекше қасиеттері бар лактоферрин ақуызы COVID-19 үшін профилактикалық, алдын-алу және қосымша емдеу әдісі ретінде құнды потенциалға ие болуы мүмкін, себебі ол вирустық инфекцияны да, қожайын жасушаның иммундық реакциясын да қамтиды. Алайда, SAR-CoV-2 вирусы бойынша лактоферрин ақуызының тағамдық қоспасы туралы қосымша зерттеулер мен әзірлемелерді қажет етеді.

Әдебиеттер:

- 1 Wang L.F., Shi Z., Zhang S., Field H., Daszak P., Eaton B. Review of bats and SARS. *Emerg Infect Dis.*, 2006, 12(12):1834-1840.
- 2 Ge X.Y., Li J.L., Yang X.L., et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. *Nature*, 2013, 503(7477):535-538.
- 3 Chen Y., Guo D. Molecular mechanisms of coronavirus RNA capping and methylation. *Virology*, 2016, 511(1):3-11.
- 4 Cui J., Li F., Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.*, 2019, 17(3):181-192.
- 5 Cauchemez S., Van Kerkhove M.D., Riley S., Donnelly C.A., Fraser C., Ferguson N.M. Transmission scenarios for Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) and how to tell them apart. *Euro Surveill.*, 2013, 18(24):20503.
- 6 Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q., Liu X.L., Zhuang Z.X., et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*, 2003, 302:276-278.
- 7 Rahman A., Sarkar A. Risk factors for fatal middle east respiratory syndrome coronavirus infections in Saudi Arabia: analysis of the WHO Line List, 2013-2018. *Am J Public Health*, 2019, 109(9):1288-1293.
- 8 Memish Z.A., Zumla A.I., Al-Hakeem R.F., Al-Rabeeh A.A., Stephens G.M. Family cluster of Middle East respiratory syndrome coronavirus infections. *N Engl. J Med.*, 2013, 368(26):2487-2494.
- 9 Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*, 2020, 92:418-423.
- 10 Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J., Niu P. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 2020, 382:727-733.
- 11 Shereen M.A., Khan S., Kazmi A., Bashir N., Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research*, 2020, 94:91-98.
- 12 Kuchler H., Cookson C., Neville S. The \$2 bn race to find a vaccine. *Financial Times*, 2020, 7.

- 13 Du L., He Y., Zhou Y., Liu S., Zheng B., Jiang S. The Spike protein of SARS-CoV-a target for vaccine and therapeutic development. *Nature review Microbiology*, 2009, 7:226-236.
- 14 Chen J., Subbarao K. The Immunobiology of SARS. *Annu Rev Immunol*, 2007, 25:443-472.
- 15 Lang J., Yang N., Deng J., Liu K., Yang P., Zhang G., Jiang C. Inhibition of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparan sulfate proteoglycans. *PLoS one*, 2011, 6: e23710.
- 16 Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J., Niu P. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 2020, 382:727-733.
- 17 Bartlam M., Yang H., Rao Z. Structural insights into SARS coronavirus proteins. *Current Opinion in Structural Biology*, 2005, 15:664-672.
- 18 Li F., Li W., Farzan M., Harrison S.C. Structure of SARS Coronavirus Spike Receptor-Binding Domain Complexed with Receptor. *Science*, 2005, 309:1864-1868.
- 19 Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y-M., Wang W., Song Z-G., et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 2020, 579(7798):265-269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.
- 20 Zhou P., Yang X., Wang X., Hu B., Zhang L., Zhang W., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, 579(7798):270-273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
- 21 Xu X., Chen P., Wang J., Feng J., Zhou H., Li X., et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Science China Life Sciences*, 2020, 63(3):457-460.
- 22 Wan Y., Shang J., Graham R., Baric R.S., Li F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS. *Journal Virol*, 2020, 94(7): e00127-20. doi: 10.1128/JVI.00127-20.
- 23 Wu A., Peng Y., Huang B., Ding X., Wang X., Niu P., et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. *Cell Host Microbe*, 2020, 27(3):325-328. doi: 10.1016/j.chom.2020.02.001.
- 24 Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H., et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*, 2020, 395(10224):565-574.
- 25 Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol*, 2020, 92(4):418-423. doi: 10.1002/jmv.25681.
- 26 Hui D.S., Azhar E., Madani T.A., Ntoumi F., Kock R., Dar O., et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health-The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *International Journal of Infectious Diseases*, 2020, 91:264-266.
- 27 SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses (mg-labmanager.s3.amazonaws.com/assets/articleNo/22279/iImg/41328/apr9-2020-ibs-1-sars-cov-2-attachment.jpg) мен <http://uidemiz.kz/info/enter.html>
- 28 Gralinski L.E., Menachery V.D. Return of the coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses*, 2020, 12(2):135. doi: 10.3390/v12020135.
- 29 Jayawardena R., Sooriyaarachchi P., Chourdakis M., Jeewandara C., Ranasinghe, P Enhancing immunity in viral infections, with special emphasis on COVID-19: A review. *Diabetes & Metabolic Syndrome*, 2020, 14:367-382.
- 30 Wu D., Lewis E.D., Pae M., Meydani S.N. Nutritional modulation of immune function: analysis of evidence, mechanisms, and clinical relevance. *Frontiers in Immunology*, 2019, 9:3160.
- 31 Gombart A.F., Pierre A., Maggini S. A Review of micronutrients and the immune system working in harmony to reduce the risk of infection. *Nutrients*, 2020, 12:236.
- 32 Al-Hatim R.R., Al-Rikabi A.K., Ghadban A.K. The Physico-chemical properties of bovine and buffalo whey proteins milk by using ultrafiltration membrane Technology. *Basrah Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 33:122-134.
- 33 Claeys W.L., Cardoen S., Daube G., De Block J., Dewettinck K., Dierick K., Vandenplas Y. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food Control*, 2013, 31:251-262.
- 34 Loss G., Depner M., Ulfman L.H., Van Neerven R.J., Hose A.J., Genuneit J., Weber J. Consumption of unprocessed cow's milk protects infants from common respiratory infections. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2015, 135:56-62.
- 35 Legrand D., Mazurier J. A critical review of the roles of host lactoferrin in immunity. *Biometals*, 2010, 23:365-376.

- 36 Lepanto M.S., Rosa L., Paesano R., Valenti P., Cutone A. Lactoferrin in aseptic and septic inflammation. *Molecules*, 2019, 24:1323.
- 37 Borzenkova N.V., Balabushevich N.G., Larionova N.I., Lactoferrin: physicochemical properties, biological functions, delivery systems, drugs and biological additives (review). *Biopharmaceutical journal*, 2010, 2(3):3-19.
- 38 Baker H.M., Baker E.N. Lactoferrin and iron: structural and dynamic aspects of binding and release. *BioMetals*, 2004, 17:209-216.
- 39 Legrand D., Pierce A., Ellass E., Carpentier M., Mariller C., Mazurier J. Lactoferrin structure and functions. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2008, 606:163-194.
- 40 Taylor S., Brock J., Kruger C., Berner T., Murphy M. Safety determination for the use of bovine milk-derived lactoferrin as a component of an antimicrobial beef carcass spray. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2004, 39:12-24.
- 41 Gonzalez-Chavez S.A., Arevalo-Gallegos S., Rascon Cruz Q. Lactoferrin: structure, function and applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2009, 33:301-308.
- 42 La O A.A. Isolation and structure-functional characterization of human colostral lactoferrin. *Biotechnol. Aplicada.*, 2000, 17:177-182.
- 43 Baker E.N., Baker H.M. A structural framework for understanding the multifunctional character of lactoferrin. *Biochimie*, 2009, 91:3-10.
- 44 Sharma S., Sinha M., Kaushik S., Kaur P., Singh T.P. C-Lobe of Lactoferrin: The Whole Story of the Half-Molecule. Review Article. *Biochemistry Research International*, 2013, 2013(271641):1-8.
- 45 Hu F., Pan F., Sawano Y., Makino T., Kakehi Y., Komiyama M., Kawakami H., Tanokura M. Studies of the structure of multiferric ion-bound lactoferrin: A new antianemic edible material. *Int. Dairy J.*, 2008, 18:1051-1056. doi: 10.1016/j.idairyj.2008.05.003.
- 46 Sorensen M., Sorensen S. Compte rendu des Travaux du Laboratoire de Carlsberg. *The Proteins in Whey*, 1939, 83:432.
- 47 Moore S.A., Anderson B.F., Groom C.R., Haridas M., Baker E.N. Three-dimensional structure of diferric bovine lactoferrin at 2.8 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, 1997, 274:222-236.
- 48 Conesa C., Sánchez L., Rota C., Pérez M.D., Calvo M., Farnaud S., Evans R.W. Isolation of lactoferrin from milk of different species: calorimetric and antimicrobial studies. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2008, 150:131-139.
- 49 Okubo K., Kamiya M., Urano Y., Nishi H., Herter J.M., Mayadas T., Kurosawa M. Lactoferrin suppresses neutrophil extracellular traps release in inflammation. *E BioMedicine*, 2016, 10:204-215.
- 50 Iglesias-Figueroa B.F., Espinoza-Sánchez E.A., Siqueiros-Cendón T.S., Rascón-Cruz Q. Lactoferrin as a nutraceutical protein from milk, an overview. *International Dairy Journal*, 2019, 89:37-41.
- 51 Cheng J.B., Wang J.Q., Bu D.P., Liu G.L., Zhang C.G., Wei H.Y., Zhou L.Y., Wang J.Z. Factors affecting the lactoferrin concentration in bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91:970-976.
- 52 Stelwagen K., Carpenter E., Haigh B., Hodgkinson A., Wheeler T.T. Immune components of bovine colostrum and milk. *Journal of Animal Science*, 2009, 87:3-9.
- 53 Al-Majali A.M., Ismail Z.B., Al-Hami Y., Nour A.Y. Lactoferrin concentration in milk from camels (*Camelus dromedarius*) with and without subclinical mastitis. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 2007, 5:120.
- 54 El-Hatmi H., Girardet J., Gaillard J., Yahyaoui M.H., Attia H. Characterization of whey proteins of camel (*Camelus dromedarius*) milk and colostrum. *Small Ruminant Research*, 2007, 70:267-271.
- 55 Furmanski P., Li Z.P., Fortuna M.B., Swamy C.V., Das M.R. Multiple molecular forms of human lactoferrin. Identification of a class of lactoferrins that possess ribonuclease activity and lack iron-binding capacity. *Journal of Experimental Medicine*, 1989, 170:415-429.
- 56 Berlutti F., Pantanella F., Natalizi T., Frioni A., Paesano R., Polimeni A., Valenti P. Antiviral properties of lactoferrin- A natural immunity molecule. *Molecules*, 2011, 16:6992-7018.
- 57 Anghel L. Lactoferrin: analysis of the structure profile. *Chemistry Journal of Moldova*, 2014, 9:99-106.
- 58 Gao C.H., Dong H.L., Tai L., Gao X.M. Lactoferrin-containing immunocomplexes drive the conversion of human macrophages from M2-into M1- like phenotype. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9:37.

- 59 Rawat P., Kumar S., Sheokand N., Raje C.I., Raje M. The multifunctional glycolytic protein glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) is a novel macrophage lactoferrin receptor. *Biochemistry and Cell Biology*, 2012, 90:329-338.
- 60 Takayama Y., Aoki R., Uchida R., Tajima A., Aoki Yoshida A. Role of CXC chemokine receptor type 4 as a lactoferrin receptor. *Biochemistry and Cell Biology*, 2017, 95:57-63.
- 61 Valenti P., Antonini G. Lactoferrin: an important host defence against microbial and viral attack. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2005, 62:2576-2587.
- 62 Shin K., Wakabayashi H., Yamauchi K., Yaeshima T., Iwatsuki K. Recombinant human intelectin binds bovine lactoferrin and its peptides. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 31:1605-1608.
- 63 Suzuki Y.A., Lopez V., Lönnnerdal B. Lactoferrin. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2005, 62:2560.
- 64 Kell D.B., Heyden E.L., Pretorius E. The Biology of Lactoferrin, an iron-binding protein that can help defend against viruses and bacteria. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11:1221.
- 65 Milewska A., Zarebski M., Nowak P., Stozek K., Potempa J., Pyrc K. Human coronavirus NL63 utilizes heparan sulfate proteoglycans for attachment to target cells. *Journal of Virology*, 2014, 88:13221-13230.
- 66 Azhar J., Mohammadabadi T., Babar M.E., Hussain T. Milk Lactoferrin: A Probable Immunological Agent Against SARS-CoV-2: A Review. *Basrah Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 33(2):138-146.
- 67 Puddu P., Valenti P., Gessani S. Immunomodulatory effects of lactoferrin on antigen presenting cells. *Biochimie*, 2009, 91:11-18.
- 68 Britigan B.E., Lewis T.S., Waldschmidt M., McCormick M.L., Krieg A.M. Lactoferrin binds CpG-containing oligonucleotides and inhibits their immunostimulatory effects on human B cells. *The Journal of Immunology*, 2001, 167:2921-2928.
- 69 Legrand D., Ellass E., Carpentier M., Mazurier J. Interactions of lactoferrin with cells involved in immune function. *Biochemistry and Cell Biology*, 2006, 84:282-290.
- 70 Queiroz V.A.O., Assis A.M.O., Júnior H.C.R. Protective effect of human lactoferrin in the gastrointestinal tract. *Revista Paulista de Pediatria*, 2013, 31:90-95.
- 71 Ishii K., Takamura N., Shinohara M. Longterm follow-up of chronic hepatitis C patients treated with oral lactoferrin for 12 months. *Hepatology Research*, 2003, 25:226-233.
- 72 Embleton N.D., Berrington J.E., Chris W.M., Cummings S.S. Lactoferrin: Antimicrobial activity and therapeutic potential. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 2013, 18:143-149.
- 73 Mehta P., Mc Auley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J. Across Specialty Collaboration, U. COVID-19: Consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*, 2020, 395:1033-1034.

М.Х. НАРМУРАТОВА¹, А. БАЙДУЛЛАЕВА¹, А.Е. МУРАТБЕКОВА¹, Д.М. МАЗБАЕВА¹,
Ж.Б. НАРМУРАТОВА^{1,2*}

¹ Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

² Satbayev University, Алматы, Казахстан

*e-mail: janarka.90n@mail.ru

ОПИСАНИЕ СВОЙСТВА ЛАКТОФЕРРИНА МОЛОКА КАК ИММУНОМОДУЛЯТОРА ПРОТИВ ВОЗБУДИТЕЛЯ КОРОНОВИРУСА

Аннотация

Недавнее появление нового коронавируса (2019 - nCoV), который вызвал вспышку необычной вирусной пневмонии у пациентов в Ухане, центральном городе Китая, является еще одним предупреждением о риске COV для здоровья населения. В условиях нынешней пандемии COVID-19, все больше внимания уделяется борьбе и профилактике заболеваний на основе многих противовирусных пищевых добавок. Лактоферрин является одной из естественных пищевых добавок, содержащихся в молоке домашних животных, и обладает иммуномодулирующим свойством из-за его способности удерживать железо и способности связываться с множеством клеточных рецепторов. Противовирусная способность лактоферрина была оценена в отношении

многих вирусов, включая SARS-CoV, который тесно связан с SARS-CoV-2 (возбудитель COVID-19). Необходимо провести специальные исследования потенциала LF против SARS-CoV-2, поскольку он может предотвращать или препятствовать заражению клеток SARS-CoV-2 из-за биологической активности LF в отношении противовирусного иммунитета. Мы надеемся, что дальнейшие исследования по оценке фармакологического эффекта лактоферрина против SARS-CoV-2 подтвердят его роль в борьбе с COVID-19.

Ключевые слова: лактоферрин, SARS-CoV-2, COVID-19, иммуномодуляция.

IRSTI: 619:630:.5767.8

M.KH. NARMURATOVA¹, A. BAYDULLAEVA¹, A.E. MURATBEKOVA¹,

D.M. MAZBAYEVA¹, ZH.B. NARMURATOVA^{1,2*}

¹Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

²Satbayev University, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: janarka.90n@mail.ru

DESCRIPTION OF THE PROPERTIES OF MILK LACTOFERRIN AS AN IMMUNOMODULATOR AGAINST THE CORONAVIRUS CAUSES

doi: 10.53729/MV-AS.2023.01.03

Abstract

A recent of a novel coronavirus due to the emergence of a new coronavirus (2019-nCoV) in the Wuhan, central China caused by the development of specific viral pneumonia in patients was a significant public health concern. During the current COVID-19 pandemic, much attention is being paid to the fight and prevention of the disease on the basis of many dietary supplements. Lactoferrin is one of the natural nutritional supplement found in mammalian milk and has immunomodulatory properties based on its ability to bind iron and bind to many cell receptors. lactoferrin has been showed the antiviral activity against SARS-CoV and other SARS-CoV-2 related viruses (the causative agent of CoVID-19). A special research is needed to study the anti-SARS-CoV-2 ability of lactoferrin. Since lactoferrin possesses biological activity against antiviral immunity, lactoferrin may inhibit SARS-CoV-2 cell infection in the host cells. We are optimistic that further studies assessing the pharmacological effects of lactoferrin against SARS-CoV-2 will amplify its role in combating COVID-19.

Keywords: lactoferrin, SARS-CoV-2, COVID-19, immunomodulation.

A virus is a body consisting of genetic material and several proteins. A pathogen capable of reproduction by penetration into a living organism. Coronavirus (CoV) is a type of virus belonging to the *Coronaviridae* family of the Kingdom of Virus, formed by a combination of the words corona (crown) and *viridae* (virus). CoV-affects the respiratory tract, gastrointestinal tract, liver and central nervous system of humans, domestic animals, birds, bats, mice and many other wild animals [1-3]. Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) - is an infectious and potentially fatal respiratory disease. SARS is the result of infection with a coronavirus, which scientists have called the SARS-related coronavirus (SARS-CoV). In 2002-2003, SARS spread to 33 countries on 5 continents, as a result of which more than 8000 people became infected and 700 died [4-6], and in 2012 more than 2,428 people became infected with respiratory syndrome (MERS-Middle East respiratory syndrome) in the Middle East, 838 people died and were under strict control. Like the outbreak of this epidemic, the newly emerged CoV showed the presence of a malignant epidemic in terms of the possibility of rapid transmission from animals to humans and from human to human [7-8]. In 2019, an outbreak of pneumonia, unknown to the population, which occurred in mid-December at the Huanan Animal and seafood market in Wuhan, which is part of Hubei Province, located in central China, attracted the attention of the whole world. As a result of a strict sequence and etiological studies in Chinese scientific laboratories, a new coronavirus (novel coronavirus (nCoV)) was identified as the causative agent of unknown pneumonia (<http://virological.org/> and

<https://www.gisaid.org/>). After that, Chinese scientists named a new type of coronavirus-SARS-CoV-2. It was found that its genetic structure is 70% similar to the SARS-CoV virus, which causes severe acute respiratory syndrome. On January 12, 2020, the World Health Organization temporarily named the new virus the 2019 new coronavirus (2019 - nCoV) [9]. The main route of transmission of SARS-CoV-2 can occur through the external surface of objects, in particular, at the moment when an infected person coughs or massages the face, eyes, nose with the part of the body that the infected person touches [10]. However, it is unknown how long the virus will live in these places. Thus, the virus enters the body, multiplies and spreads to other organs. The main damaging forms are the intestine, spleen and the most dangerous damaging organ of the lungs. People infected with the virus have mild and severe clinical manifestations of dry cough, fever, shortness of breath, bilateral pneumonia and other symptoms, including sore throat, diarrhea and vomiting [10]. Sick patients may be in close contact with infected people and respiratory droplets [11]. A variety of antiviral treatments are offered. However, the human testing period may last for months or a year [12]. The current method of combating the pandemic is isolation, personal hygiene measures and a healthy diet.

The emergence and outbreaks of new CoV species have shown that this is a global malignant epidemic that is dangerous to health. In the future, due to climate change and ecology, as well as the strengthening of human relations with animals, a dangerous epidemic may flare up again. Thus, there was a need for immediate therapy and the development of vaccines against CoV. We hope that the data provided in the article will contribute to the prevention and protection from the new coronavirus epidemic, which has turned it into a global pandemic.

The path of penetration of the coronavirus into the cell. The penetration of coronavirus into a human cell consists of the following stages. 1. A virus that has entered the body with the help of the organs of the nose, mouth or eyes of a person is directed to the protein receptor of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) (Figure 1). ACE2 is a metalloproteinase, one of the important functional receptors of SARS-CoV-2. The angiotensin converting enzyme receptor 2 is located on the surface of cells that make up some organs, in particular, the mucous membrane of the mouth and nose, lungs, stomach, small intestine, colon, lymph nodes, thymus gland, bone marrow, liver, spleen, kidneys and brain. The ACE2 receptor is very often found on the surface of the epithelial cells of the lung alveoli [13].

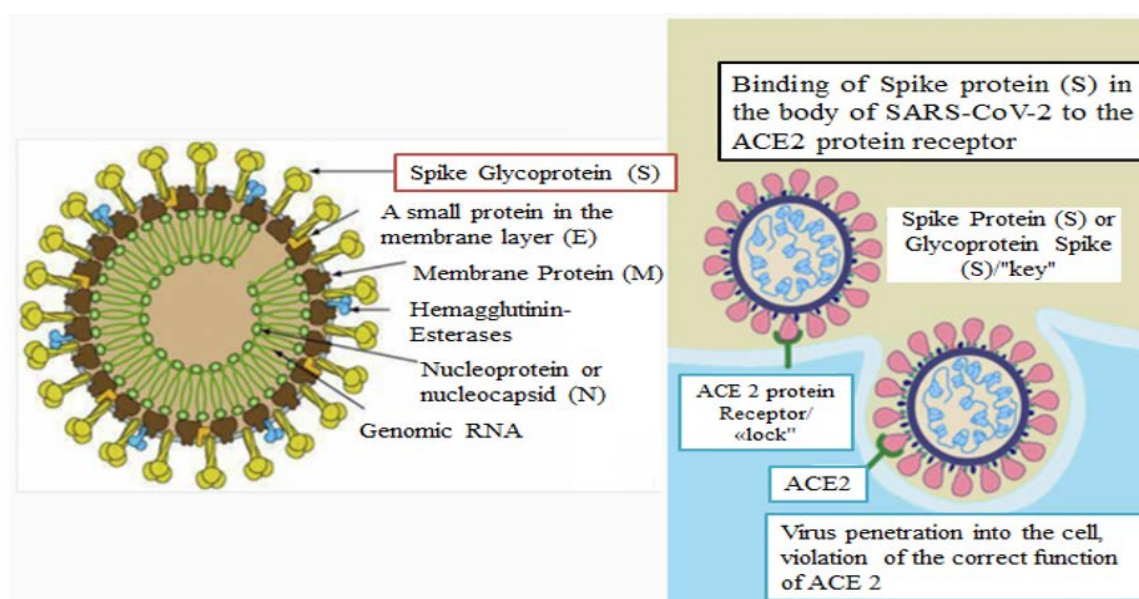


Figure 1 - The binding of a coronavirus cell and its binding to the ACE 2 receptor is shown [27]

As shown in the first figure, after the coronavirus virus recognizes the angiotensin converting enzyme receptor 2 from the cell surface, the specified receptor and the Spike protein (S) firmly

bind to each other as a "key" and "lock". As shown in crystallographic studies, the S1 segment (318-510 amino acid residues) is a region that binds to receptors important for the angiotensin converting enzyme receptor 2 [13-15]. Under the influence of a strong bond, the function of the ACE 2 receptor involved in the regulation of blood pressure is disrupted. As a result, with the help of the angiotensin converting enzyme receptor 2, the SARS-CoV-2 virus penetrates into the cell of the human body [16]. Once inside the cell, the coronavirus virus releases the entire structural protein layer surrounding it from the outside [15].

In the above sequence, SARS-CoV-2 itself or only genomic RNA enters the cytoplasm. Meanwhile, the RNA genome of the SARS-CoV virus has a length of about 30,000 nucleotides [17]. At the next stage of virus penetration into the cytoplasm, the stage of translation of the proteins responsible for the virus, RNA-a protein that has penetrated into the cytoplasm, begins. The process of doubling occurs based on the process of replication of genomic RNA penetrating the cytoplasm. Before replicating RNA, SARS-CoV-2 needs important proteins that replicate RNA. The formation of these proteins using viral RNA as a source of material is called translation. During the implementation of this process, the SARS-CoV-2 virus parasitizes the host cell (Figure 2).

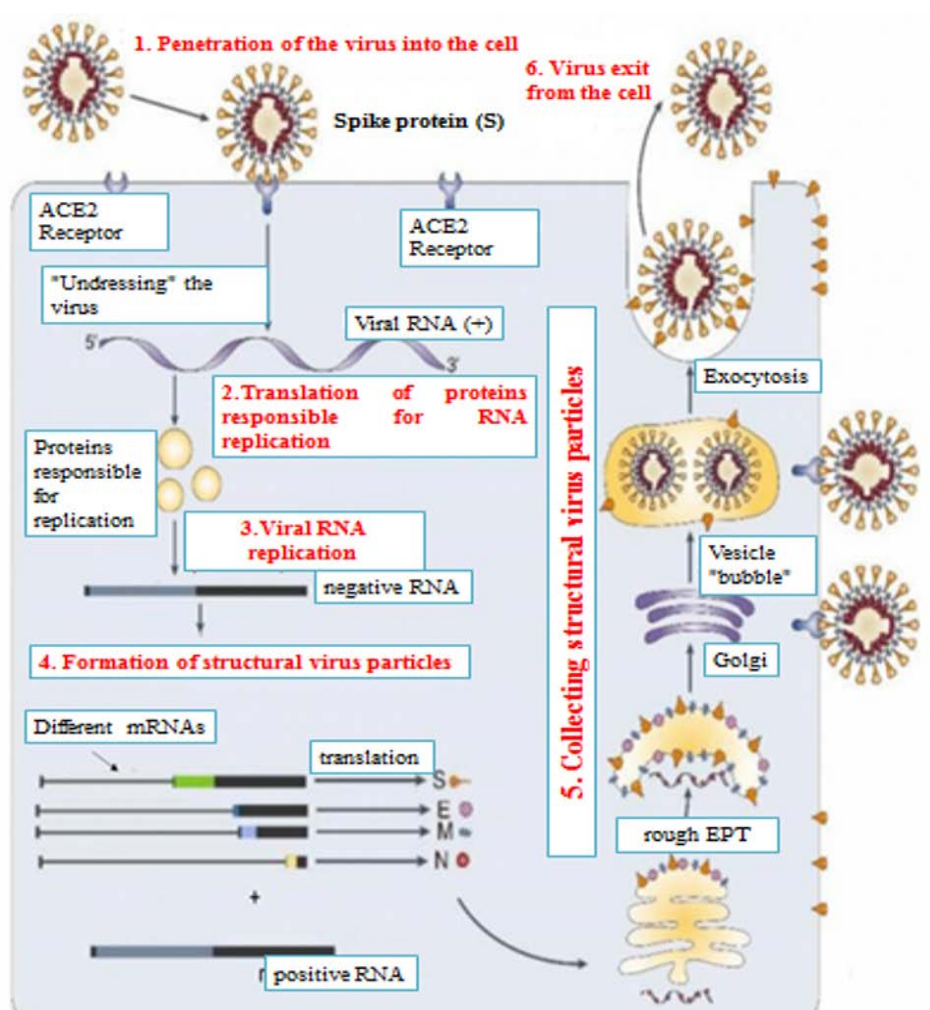


Figure 2 - Diagram of the pathway of the SARS-CoV-2 virus into the cell [27]

The third stage is the replication of the virus RNA. It works in the process of viral RNA replication after the formation of proteins responsible for the replication of secondary RNA. Mentioned, SARS-CoV-2-positive RNAs are among the viruses. After the replication stage is completed, negative RNA is formed from positive RNA. After that, at the fourth stage, the formation of structural particles of the virus begins. Particles of the structure of new viruses begin to form from the negative RNA of SARS-CoV-2. Using negative RNA as a source of material,

several mRNAs are formed. As a result, structural proteins of the virus are formed from mRNA, such as glycoprotein s-protein, membrane protein (M), small protein (E), nucleocapsid (N). At the fifth stage, after structural proteins are formed inside the EPT, proteins and RNA pass into the Golgi apparatus. Inside the Golgi apparatus, structural proteins and positive RNA are combined into a complete virus, and the vesicle is placed inside the "bubbles". At the sixth stage, the fully accumulated virus inside the vesicle begins to exit the cell during exocytosis. A fully developed virus attacks other cells [19-28].

The body's resistance to the virus is closely related to the system of healthy nutrition. Foods enriched with natural biologically active substances can reduce the risk of viral infections in the body [29]. In improving immunity, such components in food increase the activity of ViT cells and participate in their proliferation, induction and modulation of the innate and adaptive immune response [30-31]. Based on the above data, optimal nutrition is the only sustainable way for the immune system to resist COVID-19.

Among food products, milk and dairy products are useful for the immune system with their valuable proteins [32]. Epidemiological studies have shown that regular consumption of cow, mare and camel milk is characterized by a low prevalence of bacterial and viral infections in humans [33-34]. One of the important components of milk is lactoferrin (LF), a multifunctional protein belonging to the genus of transferrins.

The immunoprotective and anti-inflammatory properties of the lactoferrin protein, which provide protection against respiratory viruses such as SARS-CoV-2, have been shown in a number of scientific articles [9;15;35]. To study the potential of LF in immune protection against COVID-19, it is necessary to know its biology, structure, binding of membrane receptors, immunomodulatory and antiviral mechanisms, as well as its sources. The article discusses the preventive, therapeutic, immunoprotective and mechanism of action of lactoferrin against viruses, and also discusses the role of lactoferrin protein as an additional method of treatment of COVID-19.

Structure and physico-chemical properties of lactoferrin. The LF protein is a heme-free iron-binding glycoprotein belonging to the transferrin (TF) group. It was first isolated from cow's milk in 1939, and from mother's milk in 1960. The amino acid sequence of LF was determined in 10 animal species (human, cow, mouse, horse, pig, goat, sheep, buffalo and camel) [36-37]. The LF protein molecule consists of a single polypeptide chain consisting of approximately 700 amino acid residues. The molecular weight is ~ 76-80 kDa. The similarity of the primary structure of the human and mouse LF protein is 70%, human and cow — 69%, cow and mouse — 63% [38]. The primary structure of human LF protein has a high degree of similarity (~ 59%) with human serum TF. Transcription of the LF gene under the influence of alternative promoters - P1 and P2 - leads to the formation of two products: LF mRNA and delta-LF (Δ - LF) [39]. Δ -LF does not perform functions due to the absence of an N-terminal signal sequence [40]. The isoelectric point of the human LF in the literature is 8.0-8.5 [41]; ranges from 8.7 to 9.7 [42].

The polypeptide chain of the DA protein consists of two homologous globular fractions C and T. The similarity of the amino acid composition in the two fractions is about 37%. Fraction N forms the N-end of the polypeptide chain (1-332 amino acid residues), fraction C forms the C-end (345-691 amino acid residues). They are connected by a short alpha helix (amino acid 333-344), this compound gives the molecule an additional elastic property [37]. Each lobe has an ellipsoidal shape with dimensions of the order of 55×35×35 Å. The protein molecule is not symmetrical, since its parts are rotated at an angle of ~ 150° to each other and shifted by 25 Å. Each lobe, in turn, consists of two domains with a very similar secondary structure [37; 43]. The molecule consists of ~ 43% α -helix and ~ 27% β -helix. The protein structure has 16 disulfide bonds, 6 pairs of which are equal in both lobes, and the remaining 4 pairs are located in the C-lobes. The general scheme of the bovine lactoferrin protein molecule is shown in the third figure.

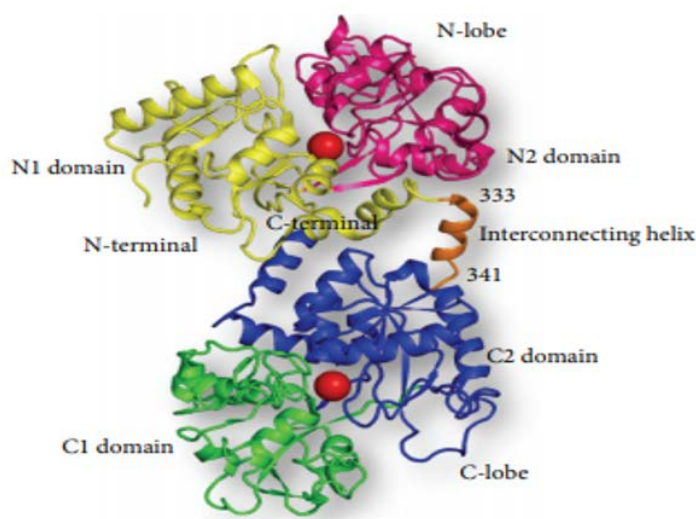


Figure 3 - Diagram of the bovine lactoferrin protein molecule

Domains N1 and N2 are marked in yellow and pink, respectively, and domains C1 and C2 are green and blue, respectively, and the interconnected spiral between the petals is orange, and two iron atoms are shown by red spheres [44]

LF exists in two different forms: apo (an iron-unsaturated protein) and holo (with Fe^{3+} in the active center). The LF protein molecule is able to reversibly bind to two Fe^{3+} ions. The deeper region between the domains (N1, N2 and C1, C2) in each lobe contains iron binding sites of ~ 42 Å in size. Each iron atom is coordinated with four protein ligands: Tyr-92 and Tyr-192 with two oxygen atoms in phenolate ions (Tyr - 435 and Tyr-528 at the C-terminus, respectively), His - 253 (His - 597) with a nitrogen atom N2 in imidazole and Asp-60 (Asp-395) with carboxylic oxygen. Each iron atom has an octahedral environment, but four protein ligands occupy only four positions out of six. According to studies, the remaining two positions contain CO_3^{2-} or HCO_3^- anions [37; 43].

The scheme of binding of LF to iron is shown (Figure 4). The iron atom is represented by a red sphere, and the interacting amino acid residues of LF are yellow. The residue numbers correspond to the N-terminus, and the amino acid residues corresponding to the C-terminus are indicated in parentheses [44].

The anion binds to the positively charged N-terminal of the peptide and the Arg121 radical. In mutagenesis experiments, it has been proven that the replacement of any 4 residues in the active center leads to an immediate deterioration in the ability of iron binding. Mutation of the Arg-121 residue leads to the same effect [38; 43].

Iron binds strongly and irreversibly ($K_d \sim 10^{-20} \text{ M}^{-1}$) to the LF protein. The LF protein is able to bind iron even with a competing ligand (for example, citrate) at pH 3.0, while other TF proteins secrete iron at pH ~ 5.5 [37]. The different properties of LF and TF are determined by the harmonious union of the two lobes of LF [38]. Binding of iron to the C-fraction of DA additionally stabilizes its binding (iron to protein) in the T-fraction. An important role here is played by the alpha helix at the C-end, which interacts with the N-lobe. The absence of this phenomenon in TV is explained by the peculiarity of the structure of the peptide connecting the two lobes of LF. In all described LFS, this peptide forms an alpha helix, whereas in TF it has a weak, straight, disordered structure. The strength of the alpha helix ensures tight binding of the two lobes and stabilizes the binding of iron to the N-lobe. As a result, this affects the release of iron (from the LF) and shifts the pH value towards the lower limit. The presence of lysine residues - Lys-206 and Lys-296 - in the ATP molecule may be the reason for the difference in the functions of LF and TF. These two residues form a unique hydrogen bond. Arg-210 and Lys-301 of the human DA protein are replaced by this pair of residues. However, the proteins of cows, buffaloes, horses and camels

contain two lysine residues similar to the position in NA - Lis-2010 and Ls-301. However, no connection is formed between these two residues and, accordingly, protein specificity is not observed [37-38].

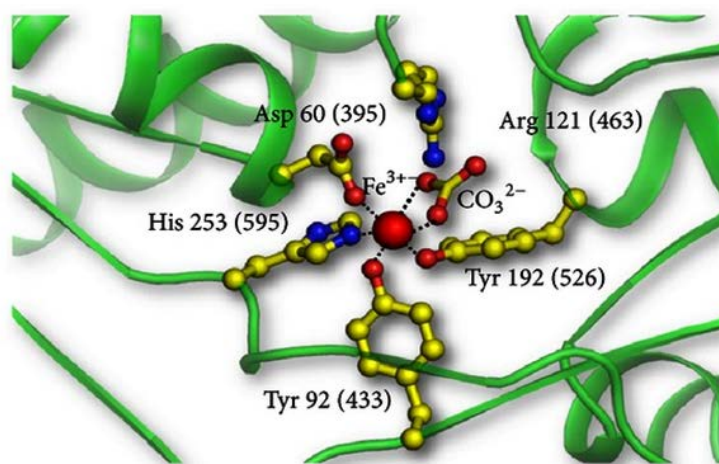


Figure 4 - Scheme of iron binding by lactoferrin [26]

The binding and release of iron with protein leads to structural changes in the LF protein [37]. The LF protein binds to iron in an open structure: first of all, it binds to the anion, which leads to the displacement of ligands. Then iron completely binds to the LF protein molecule, and then LF passes into a very compact structural form, that is, a closed structural form. The apo form of the LF protein can bind to other metal ions, usually with strongly positively charged ion ions (Cr^{3+} , Co^{3+} , Mn^{3+} , Al^{3+} , Ga^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , lanthanide ions) [37-38]. The mentioned metal ions bind to the LF protein through amino acids that bind Fe^{3+} . In addition, it has been shown that the LF protein can bind up to 70 Fe^{3+} ions using sections of the peptide chain [45]. As a result, a substance consisting of 15-16 LF protein molecules is formed. This substance has a very high stability compared to the native protein. The stability increase is based on the electrostatic coupling between Fe^{3+} and HCO_3^- ions present in the composition of various LF protein molecules in this substance [37].

The LF protein is a globular glycoprotein [39]. The carbohydrate fragment forms a glycosidic bond with the protein via asparagine amide nitrogen (Asn-137 and Asn-490). The number and location of glycoside bonds in the LF varies depending on the type of animal [37; 39]. Many LF functions are determined by its unevenly distributed surface charge. Three positively charged regions can be distinguished: N-at the end (residues 1-5), in the first alpha helix (residues 12-31) and between the two lobes. The GRRRR signal sequence at the N-end of the human LF ensures the penetration of this protein into the nucleus. Thus, it acts as a transcription factor. The above signal scheme is characteristic only for human LF, it is absent in other animals [37].

Sources of lactoferrin. The LF protein is secreted by epithelial cells of the mucous membrane of various mammals [46-50]. LF protein comes from all exocrine iron juices: lacrimal (2 mg/ml [41; 46-50] or 0.4 mg/ml), saliva (0.013 mg/ml), nasal and bronchial, bile juices (0.0042 mg/ml), pancreatitis juices, seminal fluid (0.518 mg/ml), urine (0.00005 mg/ml), sweat (0.0025 mg/ml). LF is contained in very large quantities in milk (1.28 mg/ml) and colostrum (7 mg/ml or 3.2 mg/ml) [37; 51]. The most common protein after casein in milk. The concentration of LF in cow's milk varies from 31.78 to 485.63 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ depending on the lactation period, the breed of cows [51], and its concentration in colostrum is 1-5 mg / ml. In addition, the concentration of lactoferrin in camel milk is 20-2100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ [52-53] [30]. Studies show that camel milk lactoferrin varies from 0.02 to 7.28 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ in regular milk, but the maximum amount of lactoferrin is 2.3 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

approximately 48 hours after calving, is the value [54]. Since the biological activity of bovine and human LF is similar, this allows the use of animal milk as an available source of lactoferrin protein. In the mammary glands, the secretion of LF protein (transcription and translation) is controlled by prolactin, and the expression of LF protein in the genital tract is induced by the steroid hormone estrogen. In the hematopoietic system, LF is expressed (synthesized) in neutrophils that develop at the stage of maturation of myelocytes [37]. Accumulates in secondary neutrophil granules. The protein content in them is 15 15 mcg/10⁶ [40]. In addition, LF was detected in blood (0.001 mg/ml) and amniotic fluid (0.006 mg/ml). The normal amount in the blood is about 1 mcg/ml, although with inflammation its amount can reach 200 mcg/ml [37].

Three different isoforms of lactoferrin are known, which include alpha-LF (LF- α), beta-LF (LF- β) and gamma-LF (LF-g). LF- α binds iron, but the other two isoforms, LF- β and LF-g, do not bind to iron [55-57].

Immunomodulatory effect of lactoferrin. The mechanism of binding of the LF protein to membrane receptors indicates its biological activity. LF binds to the following receptors: TLR2, TLR4 [58], CD14 [59], cytokine receptors [60] and Intelectin-1 [61]. It has been suggested that all these receptors are found in many types of cells and tissues, including lymphocytes and intestinal epithelial cells [62]. The ability of the LF protein to bind to receptors is important for increasing its antiviral immunity and the body's defense mechanism. The LF protein performs its immunomodulatory activity by competing with infectious molecules, thereby suppressing particle fusion [63]. The specificity of the LF protein lies in the fact that heparan sulfate binds to proteoglycans (HSPGs), the receptor for attachment and introduction of SARS-CoV and human coronavirus NL63 into the cell [6; 64]. SARS-CoV-2 uses ACE2 as its functional receptor, but can bind to heparan sulfate proteoglycans (HSPG), since SARS-CoV has been found to bind both receptors, however, studies of the use of HSPG for SARS-CoV-2 have not been fully proven. Epithelial cells are considered the first physical barrier preventing the penetration of harmful substances, and play an important role in innate immunity [65].

The LF protein plays an important role in the immune system and the defense system of infection and inflammation [61]. Some of its immunomodulatory effects are based on lipopolysaccharide complexes (LPS). The LF protein binds to the LPS associated with the virus, thereby preventing the virus from entering the cell, but when the virus enters the cell, it suppresses the reproduction of the virus, stimulating killer cells such as granulocytes and macrophages [65]. The LF protein participates in the regulation of cytokine/chemokine and peroxide production [66-67], activation and proliferation of immune cells, in particular macrophages, neutrophils, basophils, eosinophils, mastocytes and dendritic cells [35]. The phagocytic capacity of cells is modulated by the recognition of certain LF protein binding sites [68].

The LF protein delivered to the nucleus binds to DNA and activates various signaling pathways [41; 69]. Tumor necrosis of LF was detected using interferongamma, Alpha factor and inhibitory activity of proinflammatory cytokines such as interleukin (IL) -1, IL-2 and IL-6. In addition, at the cellular level, LF enhances the absorption of polymorphic nuclear blood cells and stimulates the myelopoietic process [41]. Also, in chronic diseases, LF increases the profile of Th1 cytokines in peripheral blood [70].

The lactoferricin peptide obtained as a result of the degradation of LF limits the onset of the inflammatory process, increases the production of IL-10, thereby stimulating Th2 (anti-inflammatory) activity. LF interference occurs as a result of the expression of the fibroblast gene, modulates protein production and changes the extracellular matrix, thereby increasing the mobility of immune cells [71].

Antiviral effect of lactoferrin protein. The LF protein has antiviral properties that suppress most RNA and DNA viruses infecting humans and animals. There are two types of antiviral action of the LF protein. Firstly, it can inhibit the binding stage of the virus to the host cell, such as herpes, hepatitis B, human cytomegalovirus, adeno-, rota- and polioviruses. Secondly, it suppresses the process of virus replication in affected cells (hepatitis C and G, AIDS). In the early stages of the damage process, the protein can have an antiviral effect [37].

The inhibition of the LF protein of viral infection is explained by the effect that prevents the binding of the virus to the host cell, presumably because molecules located on the cell surface can participate in it. Glucosaminoglycans, mainly heparan sulfates, are very strong anions present on the surface of mammalian cells because they are characterized by a high degree of sulfation. As a result of the presence of a very large amount of negative charge, glucosamine glycones provide binding to cations, proteins, enzymes, cytokines, chemokines, lipoproteins, as well as to various pathogens and viruses. According to a widespread and studied mechanism, the LF protein binds to heparan sulfate, preventing the primary interaction of the virus with the cell and protecting it from damage [41].

Numerous studies, including an *in vitro* study, have shown that of all the proteins in human blood and milk, only LF protein has a very high effect against AIDS. This phenomenon is based on the properties of inhibiting virus replication inside the host cell [37]. According to the results of other studies, the apo-form of the LF protein binds to parts of the rotavirus, preventing hemaagglutination and interaction of the virus with cellular receptors [68]. This antiviral activity of the LF protein decreases with increasing saturation of the protein with Fe^{3+} , Fe^{2+} ions, as well as divalent metal ions such as Mg^{2+} and Zn^{2+} . According to the results of recent studies (2009), direct binding of LF to structural proteins III and III A of the virus contributes to the neutralization of adenovirus [69]. The LF protein also blocks the internalization of certain viruses in the cell. This includes type I polyvirus, type I herpes simplex and ATC cytomegalovirus [36].

The LF protein is very important as a protective molecule of the host cell, and its physiological activity can be anti-inflammatory, antibacterial, antiviral, antioxidant, immunomodulatory, anticarcinogenic, antiprotozoal and antifungal [36]. According to studies, the ability of the LF protein to retain iron is also effective for modulating the mobility of immune cells and suppressing the growth of pathogenic microorganisms [51].

Coronavirus and lactoferrin

During SARS-CoV infection, the immune response of the host cell (organism) against the virus begins. The innate immune response plays an important role in suppressing viral infection. It has been suggested that the LF protein has an effect on the activation of the innate immune response against the SARS-CoV virus [11]. LF protein has been shown to increase NK cell activity during SARS-CoV infection and stimulate neutrophil aggregation and adhesion. However, the biological activity of the LF protein has not been fully studied.

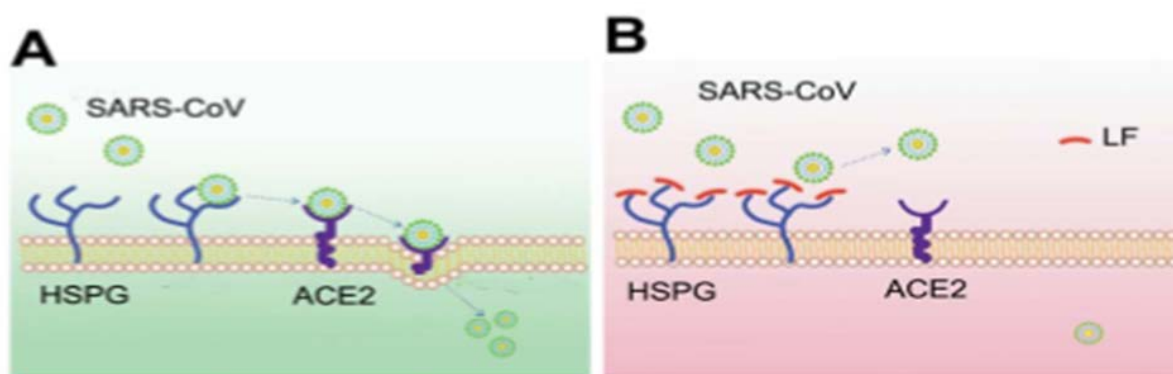


Figure 5 - Model of SARS-CoV cell penetration and the protective role of lactoferrin in SARS-CoV infection [15]

(A) HSPGs play an important role in the process of SARS-CoV penetration into the cell. HSPG binding sites allow primary binding between SARS-CoV and the host cell. The SARS-CoV virus attaches to the cell membrane by binding to HSPG and ACE2, looking for specific entry receptors (ACE2), thereby penetrating into the cell. (B) The LF protein blocks SARS-CoV

infection by binding to HSPG. The LF protein is deposited in hspg on the cell surface and prevents preliminary interaction and subsequent internal processes between the virus and host cells [15]

Viruses typically use common molecules on the cell membrane to facilitate entry into cells. These molecules, including heparan sulfate proteoglycans (HSPGs), help establish the first contact for penetration into the host cell by providing binding sites to the first virus on the cell surface [38]. It has been shown that the LF protein prevents the penetration of some viruses into the internal cells of the body by binding to HSPGs present in many cells [39].

This property of the LF protein protects the host cell or organism from viral infections. Based on these findings, another effect of the LF protein against SARS-CoV is predicted by its binding to the HSPGs -molecule, which is widespread in host cells. The above data show that during the penetration of the SARS pseudovirus into the cell, the ACE2 and HSPGs receptors on the cell surface play an important role (Figure 5). The LF protein can block SARS pseudovirus infection by binding to ASE2 and HSPGs, suggesting that it may play a protective role in the host cell's immune system against SARS-CoV attack.

Methods of combating the COVID-19 pandemic, in addition to compliance with restrictions and hygiene measures, still require comprehensive study, although antiviral drugs and vaccines have been discovered. The possibility of using LF protein as a dietary supplement against a wide range of viruses, including SARS CoV, has been studied. These research papers are interesting because they are close to SARS CoV-2, belonging to the same relative [9; 15]. The similarity of the SARS-CoV and SARS-CoV-2 sequences is 79%, and their receptor-binding domain structure is also very similar. In addition, the binding of LF protein to heparan sulfate proteoglycans on the cell surface (HSPGs) in mouse coronavirus, human coronavirus HCoV-NL63 [64] and SARS-CoV [15] suppresses the activity of the virus. But there are no proven studies of the effect of the LF protein on the penetration of SARS-CoV-2 into host cells [65]. In some patients, death from COVID-19 is associated not only with viral infection, but also with hyperinflammatory and cytokine disease syndrome, which leads to acute respiratory distress and subsequent death [72]. In severe cases of COVID-19, an increase in the level of cytokines and interleukin IL-6, tumor necrosis factor (TNFa) and ferritin is observed [65]. The LF protein can modulate the immune and inflammatory response against viral infection, so the LF protein can serve as a basis for further treatment of severe cases of COVID-19.

Conclusion

The LF protein in milk is effective against viral attacks as an important dietary supplement, binds to many viral particles or viral receptors and helps strengthen the immune system. In addition, the lactoferrin protein, which has special immunomodulatory, anti-inflammatory and antiviral properties, may have valuable potential as a preventive, preventive and complementary treatment for COVID-19, since it includes both viral infection and the immune response of the host cell. However, more research and development is needed regarding the lactoferrin protein dietary supplement for the SARS-CoV-2 virus.

References:

- 1 Wang L.F., Shi Z., Zhang S., Field H., Daszak P., Eaton B. Review of bats and SARS. *Emerg Infect Dis.*, 2006, 12(12):1834-1840.
- 2 Ge X.Y., Li J.L., Yang X.L., et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. *Nature*, 2013, 503(7477):535-538.
- 3 Chen Y., Guo D. Molecular mechanisms of coronavirus RNA capping and methylation. *Viroi Sin.*, 2016, 31(1):3-11.
- 4 Cui J., Li F., Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.*, 2019, 17(3):181-192.
- 5 Cauchemez S., Van Kerkhove M.D., Riley S., Donnelly C.A., Fraser C., Ferguson N.M. Transmission scenarios for Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) and how to tell them apart. *Euro Surveill.*, 2013, 18(24):20503.
- 6 Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q., Liu X.L., Zhuang Z.X., et al. Isolation and characterization of

viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*, 2003, 302:276–278.

7 Rahman A., Sarkar A. Risk factors for fatal middle east respiratory syndrome coronavirus infections in Saudi Arabia: analysis of the WHO Line List, 2013-2018. *Am J Public Health*, 2019, 109(9):1288-1293.

8 Memish Z.A., Zumla A.I., Al-Hakeem R.F., Al-Rabeeah A.A., Stephens G.M. Family cluster of Middle East respiratory syndrome coronavirus infections. *N Engl. J Med.*, 2013, 368(26):2487-2494.

9 Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*, 2020, 92:418-423.

10 Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J., Niu P. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 2020, 382:727-733.

11 Shereen M.A., Khan S., Kazmi A., Bashir N., Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research*, 2020, 94:91-98.

12 Kuchler H., Cookson C., Neville S. The \$2 bn race to find a vaccine. *Financial Times*, 2020, 7.

13 Du L., He Y., Zhou Y., Liu S., Zheng B., Jiang S. The Spike protein of SARS-CoV-a target for vaccine and therapeutic development. *Nature review Microbiology*, 2009, 7:226-236.

14 Chen J., Subbarao K. The Immunobiology of SARS. *Annu Rev Immunol*, 2007, 25:443-472.

15 Lang J., Yang N., Deng J., Liu K., Yang P., Zhang G., Jiang C. Inhibition of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparan sulfate proteoglycans. *PLoS one*, 2011, 6: e23710.

16 Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J., Niu P. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 2020, 382:727-733.

17 Bartlam M., Yang H., Rao Z. Structural insights into SARS coronavirus proteins. *Current Opinion in Structural Biology*, 2005, 15:664-672.

18 Li F., Li W., Farzan M., Harrison S.C. Structure of SARS Coronavirus Spike Receptor-Binding Domain Complexed with Receptor. *Science*, 2005, 309:1864-1868.

19 Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y-M., Wang W., Song Z-G., *et al.* A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 2020, 579(7798):265-269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.

20 Zhou P., Yang X., Wang X., Hu B., Zhang L., Zhang W., *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, 579(7798):270-273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.

21 Xu X., Chen P., Wang J., Feng J., Zhou H., Li X., *et al.* Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Science China Life Sciences*, 2020, 63(3):457-460.

22 Wan Y., Shang J., Graham R., Baric R.S., Li F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS. *Journal Virol*, 2020, 94(7): e00127-20. doi: 10.1128/JVI.00127-20.

23 Wu A., Peng Y., Huang B., Ding X., Wang X., Niu P., *et al.* Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. *Cell Host Microbe*, 2020, 27(3):325-328. doi: 10.1016/j.chom.2020.02.001.

24 Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H., *et al.* Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*, 2020, 395(10224):565-574.

25 Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol*, 2020, 92(4):418-423. doi: 10.1002/jmv.25681.

26 Hui D.S., Azhar E., Madani T.A., Ntoumi F., Kock R., Dar O., *et al.* The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health-The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *International Journal of Infectious Diseases*, 2020, 91:264-266.

27 SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses (mg-labmanager.s3.amazonaws.com/assets/articleNo/22279/iImg/41328/apr9-2020-ibs-1-sars-cov-2-attachment.jpg) мен <http://uidemiz.kz/info/enter.html>

28 Gralinski L.E., Menachery V.D. Return of the coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses*, 2020, 12(2):135. doi: 10.3390/v12020135.

29 Jayawardena R., Sooriyaarachchi P., Chourdakis M., Jeewandara C., Ranasinghe, P Enhancing immunity in viral infections, with special emphasis on COVID-19: A review. *Diabetes & Metabolic Syndrome*, 2020, 14:367-382.

30 Wu D., Lewis E.D., Pae M., Meydani S.N. Nutritional modulation of immune function: analysis

of evidence, mechanisms, and clinical relevance. *Frontiers in Immunology*, 2019, 9:3160.

31 Gombart A.F., Pierre A., Maggini S. A Review of micronutrients and the immune system working in harmony to reduce the risk of infection. *Nutrients*, 2020, 12:236.

32 Al-Hatim R.R., Al-Rikabi A.K., Ghadban A.K. The Physico-chemical properties of bovine and buffalo whey proteins milk by using ultrafiltration membrane Technology. *Basrah Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 33:122-134.

33 Claeyls W.L., Cardoen S., Daube G., De Block J., Dewettinck K., Dierick K., Vandenplas Y. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food Control*, 2013, 31:251-262.

34 Loss G., Depner M., Ulfman L.H., Van Neerven R.J., Hose A.J., Genuneit J., Weber J. Consumption of unprocessed cow's milk protects infants from common respiratory infections. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2015, 135:56-62.

35 Legrand D., Mazurier J. A critical review of the roles of host lactoferrin in immunity. *Biometals*, 2010, 23:365-376.

36 Lepanto M.S., Rosa L., Paesano R., Valenti P., Cutone A. Lactoferrin in aseptic and septic inflammation. *Molecules*, 2019, 24:1323.

37 Борзенкова Н.В., Балабушевич Н.Г., Ларинова Н.И. Лактоферрин: физико-химические свойства, биологические функции, системы доставки, лекарственные препараты и биологически активные добавки. *Биофармацевтический журнал*, 2010, 2(3):3-19.

38 Baker H.M., Baker E.N. Lactoferrin and iron: structural and dynamic aspects of binding and release. *BioMetals*, 2004, 17:209-216.

39 Legrand D., Pierce A., Ellass E., Carpentier M., Mariller C., Mazurier J. Lactoferrin structure and functions. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2008, 606:163-194.

40 Taylor S., Brock J., Kruger C., Berner T., Murphy M. Safety determination for the use of bovine milk-derived lactoferrin as a component of an antimicrobial beef carcass spray. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2004, 39:12-24.

41 Gonzalez-Chavez S.A., Arevalo-Gallegos S., Rascon Cruz Q. Lactoferrin: structure, function and applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2009, 33:301-308.

42 La O A.A. Isolation and structure-functional characterization of human colostrum lactoferrin. *Biotechnol. Aplicada*, 2000, 17:177-182.

43 Baker E.N., Baker H.M. A structural framework for understanding the multifunctional character of lactoferrin. *Biochimie*, 2009, 91:3-10.

44 Sharma S., Sinha M., Kaushik S., Kaur P., Singh T.P. C-Lobe of Lactoferrin: The Whole Story of the Half-Molecule. Review Article. *Biochemistry Research International*, 2013, 2013(271641):1-8.

45 Hu F., Pan F., Sawano Y., Makino T., Kakehi Y., Komiyama M., Kawakami H., Tanokura M. Studies of the structure of multiferric ion-bound lactoferrin: A new antianemic edible material. *Int. Dairy J.*, 2008, 18:1051-1056. doi: 10.1016/j.idairyj.2008.05.003.

46 Sorensen M., Sorensen S. Compte rendu des Travaux du Laboratoire de Carlsberg. *The Proteins in Whey*, 1939, 83:432.

47 Moore S.A., Anderson B.F., Groom C.R., Haridas M., Baker E.N. Three-dimensional structure of diferric bovine lactoferrin at 2.8 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, 1997, 274:222-236.

48 Conesa C., Sánchez L., Rota C., Pérez M.D., Calvo M., Farnaud S., Evans R.W. Isolation of lactoferrin from milk of different species: calorimetric and antimicrobial studies. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2008, 150:131-139.

49 Okubo K., Kamiya M., Urano Y., Nishi H., Herter J.M., Mayadas T., Kurosawa M. Lactoferrin suppresses neutrophil extracellular traps release in inflammation. *E BioMedicine*, 2016, 10:204-215.

50 Iglesias-Figueroa B.F., Espinoza-Sánchez E.A., Siqueiros-Cendón T.S., Rascón-Cruz Q. Lactoferrin as a nutraceutical protein from milk, an overview. *International Dairy Journal*, 2019, 89:37-41.

51 Cheng J.B., Wang J.Q., Bu D.P., Liu G.L., Zhang C.G., Wei H.Y., Zhou L.Y., Wang J.Z. Factors affecting the lactoferrin concentration in bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91:970-976.

52 Stelwagen K., Carpenter E., Haigh B., Hodgkinson A., Wheeler T.T. Immune components of bovine colostrum and milk. *Journal of Animal Science*, 2009, 87:3-9.

53 Al-Majali A.M., Ismail Z.B., Al-Hami Y., Nour A.Y. Lactoferrin concentration in milk from camels (*Camelus dromedarius*) with and without subclinical mastitis. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 2007, 5:120.

54 El-Hatmi H., Girardet J., Gaillard J., Yahyaoui M.H., Attia H. Characterization of whey proteins

of camel (*Camelus dromedarius*) milk and colostrum. *Small Ruminant Research*, 2007, 70:267-271.

55 Furmanski P., Li Z.P., Fortuna M.B., Swamy C.V., Das M.R. Multiple molecular forms of human lactoferrin. Identification of a class of lactoferrins that possess ribonuclease activity and lack iron-binding capacity. *Journal of Experimental Medicine*, 1989, 170:415-429.

56 Berlutti F., Pantanella F., Natalizi T., Frioni A., Paesano R., Polimeni A., Valenti P. Antiviral properties of lactoferrin- A natural immunity molecule. *Molecules*, 2011, 16:6992-7018.

57 Anghel L. Lactoferrin: analysis of the structure profile. *Chemistry Journal of Moldova*, 2014, 9:99-106.

58 Gao C.H., Dong H.L., Tai L., Gao X.M. Lactoferrin-containing immunocomplexes drive the conversion of human macrophages from M2-into M1- like phenotype. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9:37.

59 Rawat P., Kumar S., Sheokand N., Raje C.I., Raje M. The multifunctional glycolytic protein glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) is a novel macrophage lactoferrin receptor. *Biochemistry and Cell Biology*, 2012, 90:329-338.

60 Takayama Y., Aoki R., Uchida R., Tajima A., Aoki Yoshida A. Role of CXC chemokine receptor type 4 as a lactoferrin receptor. *Biochemistry and Cell Biology*, 2017, 95:57-63.

61 Valenti P., Antonini G. Lactoferrin: an important host defence against microbial and viral attack. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2005, 62:2576-2587.

62 Shin K., Wakabayashi H., Yamauchi K., Yaeshima T., Iwatsuki K. Recombinant human intelectin binds bovine lactoferrin and its peptides. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 31:1605-1608.

63 Suzuki Y.A., Lopez V., Lönnerdal B. Lactoferrin. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2005, 62:2560.

64 Kell D.B., Heyden E.L., Pretorius E. The Biology of Lactoferrin, an iron-binding protein that can help defend against viruses and bacteria. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11:1221.

65 Milewska A., Zarebski M., Nowak P., Stozek K., Potempa J., Pyrc K. Human coronavirus NL63 utilizes heparan sulfate proteoglycans for attachment to target cells. *Journal of Virology*, 2014, 88:13221-13230.

66 Azhar J., Mohammadabadi T., Babar M.E., Hussain T. Milk Lactoferrin: A Probable Immunological Agent Against SARS-CoV-2: A Review. *Basrah Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 33(2):138-146.

67 Puddu P., Valenti P., Gessani S. Immunomodulatory effects of lactoferrin on antigen presenting cells. *Biochimie*, 2009, 91:11-18.

68 Britigan B.E., Lewis T.S., Waldschmidt M., McCormick M.L., Krieg A.M. Lactoferrin binds CpG-containing oligonucleotides and inhibits their immunostimulatory effects on human B cells. *The Journal of Immunology*, 2001, 167:2921-2928.

69 Legrand D., Ellass E., Carpentier M., Mazurier J. Interactions of lactoferrin with cells involved in immune function. *Biochemistry and Cell Biology*, 2006, 84:282-290.

70 Queiroz V.A.O., Assis A.M.O., Júnior H.C.R. Protective effect of human lactoferrin in the gastrointestinal tract. *Revista Paulista de Pediatria*, 2013, 31:90-95.

71 Ishii K., Takamura N., Shinohara M. Longterm follow-up of chronic hepatitis C patients treated with oral lactoferrin for 12 months. *Hepatology Research*, 2003, 25:226-233.

72 Embleton N.D., Berrington J.E., Chris W.M., Cummings S.S. Lactoferrin: Antimicrobial activity and therapeutic potential. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 2013, 18:143-149.

73 Mehta P., Mc Auley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J. Across Specialty Collaboration, U. COVID-19: Consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*, 2020, 395:1033-1034.