

Научное сообщение

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ЛАКТОФЕРРИНА ПРИ COVID-19

Зорина В.Н.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии
Федерального медико-биологического агентства» (ФГУН ИТ ФМБА России)*

Россия, 192019, Санкт-Петербург, ул.Бехтерева, д.1

Тел./факс: (812) 365-06-80, e-mail: nilimmun@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Возбудитель COVID-19 (SARS-CoV-2) относится к вирусам II группы патогенности с неуточненными особенностями патогенеза и отличается выраженным влиянием на иммунную систему. Наблюдаемая при COVID-19 гиперсекреция провоспалительных цитокинов негативно влияет на Т-клетки, провоцирует апоптоз эпителиальных и эндотелиальных клеток, приводит к гиперактивации коагуляции, при этом синтез интерферонов и антителообразование малоактивны, у больных часто наблюдается присоединение бактериальной инфекции и развитие тяжелой пневмонии. В условиях комплексного влияния вируса на различные компоненты иммунной системы, необходим поиск веществ, способных оказывать модулирующее воздействие на иммунный ответ. Лактоферрин молока человека и других млекопитающих (коровы, верблюда и пр.) имеет выраженные антибактериальные и антиоксидантные свойства, демонстрирует эффективность против вирусов, включая SARS-CoV, способен регулировать синтез цитокинов, рост и дифференцировку иммунокомпетентных клеток. Это обосновывает перспективность перорального применения биосовместимых препаратов лактоферрина из коровьего молока для профилактики и комплексного лечения COVID-19.

Ключевые слова: лактоферрин, терапия, COVID-19, SARS-CoV-2, иммунитет

POSSIBLE ROLE OF LACTOFERRIN IN COVID-19

Zorina V.N.

“Institute of Toxicology” of Federal Medico-Biological Agency

1 Bekhtereva, Saint-Peterburg, 192019

Tel.: (812) 365-06-80, e-mail: nilimmun@yandex.ru

SUMMARY

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is caused by the SARS-CoV-2, which belongs to the viruses of group II, has unspecified pathogenesis and demonstrates remarkable effect on the immune system. The hypersecretion of pro-inflammatory cytokines during COVID-19 negatively affects on T cells, provokes apoptosis of epithelial and endothelial cells, leads to hyperactivation of coagulation, but interferon synthesis and antibodies formation are practically inactive, with often cases of attaches of bacterial infection and the development of the severe pneumonia. In the context of the complex effect of the virus on various components of the immune system, it is necessary to search for substances that can have a modulating effect on the immune response. Lactoferrin of human milk and other mammals (cows, camels, etc.) has pronounced antibacterial and antioxidant properties, demonstrates its effectiveness against viruses, including SARS-CoV, is able to regulate the synthesis of cytokines, the growth and differentiation of immunocompetent cells. This justifies the promise of the oral administration of biocompatible lactoferrin preparations from cow's milk for the prevention and comprehensive treatment of COVID-19.

Key words: lactoferrin, therapy, COVID-19, SARS-CoV-2, immunity

Возбудитель COVID-19, его влияние на иммунную систему

Коронавирусная инфекция — острое вирусное заболевание с преимущественным поражением верхних дыхательных путей, вызываемое РНК-содержащим вирусом рода *Betacoronavirus* семейства *Coronaviridae*. Ранее коронавирусы рассматривались только в качестве возбудителей нетяжёлых заболеваний верхних дыхательных путей, однако к концу 2002 г. начали появляться представители II группы патогенности. Так, в 2002 году выявлен SARS-CoV - возбудитель атипичной пневмонии, вызывавший тяжёлый острый респираторный синдром, в мире было зарегистрировано более 8 000 случаев, из них 774 со смертельным исходом. В 2012 году проявил себя MERS-CoV - возбудитель ближневосточного респираторного синдрома, зарегистрировано 2519 случаев, 866 закончились летальным исходом. Новый коронавирус SARS-CoV-2 (COVID 19), явившийся причиной пандемии 2019-2020 гг, представляет собой одноцепочечный РНК-содержащий вирус, относящийся к линии Beta-CoV В и почти на 80% генетически идентичный SARS-CoV [3].

Опубликованная на данный момент информация по влиянию SARS-CoV-2 на иммунный ответ недостаточна и противоречива, значительная часть выводов основывается только на предположениях. Считается, что выявляемая при COVID-19 лимфопения свидетельствует о дефиците NK-клеток у пациентов с тяжёлыми формами заболевания. Предполагается, что вирус прямо или опосредованно влияет на макрофаги, дендритные клетки и NK, в том числе через TLR. Высказано предположение, что ингибирование сигнальных путей при инфекции может способствовать гиперактивации p38MAPK в инфицированных моноцитах / макрофагах, что приводит к гиперпродукции цитокинов, хемокинов и белков острой фазы [16].

Необходимо учитывать, что репликация SARS-CoV-2 происходит в цитоплазме клеток альвеолярного эпителия, экспрессии антигенов вируса на поверхность клетки до выхода вирионов из клетки не происходит, соответственно распознавание иммунокомпетентными клетками затруднено, антителообразование и синтез интерферонов стимулируются относительно поздно [3]. Продемонстрировано, что, хотя домен RBD2 S-белка считается важной мишенью разрабатываемых вакцин против респираторных коронавирусов, антитела к этому домену выявляются далеко не у всех переболевших COVID-19 (3 из 26 человек, участвовавших в исследовании) [16].

Установлено, что SARS-CoV-2 способен прямо и опосредованно подавлять синтез интерферонов. Ранее было показано, что SARS-CoV и MERS-CoV могут напрямую заражать иммунокомпетентные клетки, видоизменяя иммунный ответ. Известно, что

большинство пациентов с COVID-19 демонстрируют высокие уровни цитокинов (IL-1b, IL-6, TNFa) и хемокинов (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL10). Наблюдаемая при COVID-19 гиперсекреция цитокинов моноцитами/макрофагами (цитокиновый шторм) негативно влияет на Т-клетки. У пациентов может развиваться диссеминированная внутрисосудистая коагуляция (ДВС) вследствие повреждения, либо апоптоза эпителиальных и эндотелиальных клеток, вызванного цитокинами, с повышенной проницаемостью сосудов, гиперэкспрессией тканевых факторов и хронической активацией коагуляции. При этом, rCoV, включая SARS-CoV-2 способны избегать обнаружения иммунной системой при помощи самых различных механизмов[11, 16].

Совершенно очевидно, что при столь негативном и разрушительном воздействии SARS-CoV-2 на различные компоненты иммунной системы, необходимо применение не низкомолекулярных стимуляторов либо ингибиторов секреции отдельных цитокинов, а веществ, способных оказывать комплексное воздействие на вирус и присоединяющуюся бактериальную инфекцию. К веществам данной группы можно отнести лактоферрин. Целью данного обзора была оценка перспектив использования лактоферрина в комплексной терапии и профилактике COVID-19.

Лактоферрин, его противовирусные свойства и перспективы применения при COVID-19

Лактоферрин (ЛФ) является гликопротеином и металлопротеином (75-77 кДа), относится к семейству трансферринов и циркулирует в организме в 2-х формах (апо-форма и связанная с железом, либо другим металлом). Помимо молозива и молока (1-3 мг/мл у человека), лактоферрин обнаруживается в крови и секретах (в том числе бронхо-легочный лаваж, слюна, слезная жидкость и пр.), депонированный в гранулах нейтрофилов ЛФ активно высвобождается при воспалении. Существуют различные изоформы ЛФ, при этом ЛФ-β и ЛФ-γ обладают РНКазной активностью [15]. Лактоферрин способен взаимодействовать с гепарином, липополисахаридами, гликозаминогликанами, ДНК [20].

Антибактериальные и иммунорегуляторные свойства ЛФ известны достаточно широко [4,13,20]. Помимо связывания железа, необходимого бактериям, лактоферрин предотвращает перекисное окисление липидов и повреждение супероксидными радикалами ДНК и РНК в митохондриях [15], участвует в регуляции окислительного стресса [4,13]. Показано, что ЛФ способен повышать активность НК-клеток, усиливать фагоцитоз, способствует созреванию Т- и В-лимфоцитов, влияет на соотношение Th1/Th2

клеток. Особенно ценным является способность ЛФ оказывать модулирующее воздействие на синтез цитокинов, включая интерфероны [4,13,20,21].

Однако данный белок демонстрирует еще и активность против РНК- и других вирусов [20]. Выявлено, что ЛФ, при помощи прямого и опосредованного воздействия, подавляет респираторно-синцитиальный вирус человека, вирус гриппа, аденовирус, энтеровирус, ротавирус, ВИЧ-1, вирусы Зика и Денге [5, 6, 7, 8]. ЛФ способен предотвращать связывание РНК-содержащих вирусов (например, вируса Денге) с клеточной мембраной [8].

Установлено, что у пациентов острым респираторным синдромом активируется ген ЛФ. Обращает на себя внимание то, что в данном исследовании не выявлено активной экспрессии генов МНС-I или основных цитокинов, на основании чего авторы предполагают, что иммунный ответ против SARS-CoV может отличаться от других вирусных инфекций или что вирус использует принципиально другую стратегию, чтобы избежать иммунной системы хозяина [19].

На клеточной модели показано, что инфицирование клеток HEK293E / ACE2-Мус псевдовиром SARS-CoV может быть значительно ингибировано в присутствии ЛФ, эффект -дозазависим. Известно, что заражение клеток-хозяев SARS-CoV стимулируется так называемым спайк-белком, который является единственным белком оболочки, ответственным за прикрепление и слияние вирусной и клеточной мембран и что ACE2 служит функциональным рецептором инфекции SARS-CoV, однако лактоферрин блокирует связывание спайк-белка с клетками ACE2-независимым путем. Высказывается предположение, что ЛФ образует связи с гепарансульфатными протеогликанами на поверхности клетки, препятствуя взаимодействию клетки с вирусом (первичному закреплению) [12]. Учитывая высокую гомологию SARS-CoV и SARS-CoV-2, можно предположить сходные эффекты и при COVID-19.

Немаловажным фактором является способность ЛФ подавлять бактериальные возбудители пневмонии, часто выявляемой при SARS-CoV-2. При моделировании хронической инфекции легких и кистозного фиброза на животных, аэрозольная форма ЛФ снижала бактериальную нагрузку (*Pseudomonas aeruginosa*) и инфильтрацию лейкоцитами [9]. Инъекционная форма ЛФ на модели острой пневмонии (*A. baumannii*) повышала IL-4 и IL10, уменьшала повреждения легких [17]. ЛФ активен и против антибиотикорезистентных штаммов [20], способен подавлять гены, определяющие патогенность *Streptococcus pneumoniae* [14].

Продemonстрировано, что лактоферрин, является хорошим адъювантом при вакцинации, оказывает дополнительное благотворное воздействие на бронхолегочную систему [4]. Данное свойство белка представляется весьма перспективным в связи с разработкой рекомбинантных вакцин, нередко отличающихся низкой иммуногенностью.

Все вышеперечисленное позволяет рассматривать ЛФ как перспективный кандидат для лечения COVID-19, как минимум в составе комплексной терапии, а также для безопасной профилактики вирусной инфекции у «контактеров» с заболевшими и у врачей.

Немаловажным является тот факт, что трехмерные структуры доменов ЛФ молока человека, коровы, козы, свиньи, лошади, верблюда, буйвола высокомологичны [15, 18], что позволяет перорально применять препараты, полученные из молока животных, в существенных концентрациях, без вреда для человеческого организма: через 10-20 минут ЛФ обнаруживается в печени, почках, селезенке и головном мозге мышей, лимфоузлах кишечника [10]. При этом действие ЛФ избирательно: апо-форма ЛФ ингибирует рост *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, однако не влияет представителей родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* [2].

На данный момент запатентовано много методов выделения ЛФ из коровьего молока [1]. В Европе (Германия, Голландия) и США и Японии лактоферрин активно производится как продукт комплексной переработки молока, в виде БАДов (по некоторым данным – более 280 000 тн/год), ЛФ позиционируется производителями (Symbiotics, Nutricology, Lifeextension и другие) и продавцами и как стимулятор иммунного ответа в период высокого риска вирусной инфекции. Однако в России известен только один официальный производитель ЛФ: ООО «Лактобио», выпускающий Биферрин в виде таблеток для перорального применения (содержит лактоферрин, Zn, витамин E), а также ветпрепарат Полиферрин-а в виде раствора для инъекций.

Заключение

Обобщая представленный материал, можно заключить, что лактоферрин, в том числе выделенный из побочных продуктов переработки молока, имеет хорошие перспективы в противодействии COVID-19. Его эффективность необходимо проверить в серии доклинических экспериментов и на клеточных моделях. При подтверждении эффективности желательна организация массового серийного выпуска ЛФ на территории РФ, как для моно- либо комплексного лечения/профилактики COVID-19, так и для применения при бактериальной инвазии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гольдман И.Л., Майзель С.Г., Садчикова Е.Р., Шехватова Г.В., Пехотин И.Ю., Зокин А.А., Зобнин Д.Б., Маркин Э.В., Панферов А.В. Способ выделения и очистки лактоферрина из молочного сырья. Патент РФ № 2634859, Опубликовано 07.11.2017 Бюл. № 31 [Goldman I.L., Majzel S.G, Sadchikova E.P., Shekhvatova G.V., Pekhotin I.Yu., Zokin A.A., Zobnin D.B., Markin E.V., Panferov A.V. Method for lactoferrin isolation and purification from dairy raw materials. Patent № 2634859, Date of publication: 07.11.2017 Bull. № 31, IN RUS]
2. Зорина В.Н., Зорин Н.А. Белковые компоненты врожденного иммунитета в защите от патогенной инвазии. ЖМЭИ. 2013; 3: 111-117 [Zorina V.N., Zorin N.A. Protein components of innate immunity in protection from pathogenic invasion. Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology., 2013, Vol.3, pp. 111-117 IN RUS]
3. Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Чернобровкина Т.Я., Янковская Я.Д., Бурова С.В. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): клинико-эпидемиологические аспекты. Архивъ внутренней медицины. 2020; 10(2): 87-93. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-2-87-93. [Nikiforov V.V., Suranova T.G., Chernobrovkina T.Ya , Yankovskaya Y.D., Burova S.V. New Coronavirus Infection (Covid-19): Clinical and Epidemiological Aspects. The Russian Archives of Internal Medicine, Vol.10, no.2, pp. 87-93. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-2-87-93].
4. Actor J.K., Hwang S.A., Kruzel M.L. Lactoferrin as a natural immune modulator. Curr Pharm Des., 2009, vol. 15, no. 17, pp.1956-73.
5. Ammendolia M.G., Agamennone M., Pietrantonio A., Lannutti F., Siciliano R.A., De Giulio B., Amici C., Superti F. Bovine lactoferrin-derived peptides as novel broad-spectrum inhibitors of influenza virus. Pathog Glob Health., 2012, vol.106, no.1, pp.12-9. doi: 10.1179/2047773212Y.0000000004.
6. Berlutti F, Pantanella F, Natalizi T, Frioni A, Paesano R, Polimeni A, Valenti P. Antiviral properties of lactoferrin – a natural immunity molecule. Molecules, 2011, vol.16, no.8, pp. 6992–7018. doi: 10.3390/molecules16086992.
7. Carvalho C.A.M., Casseb S.M.M., Gonçalves R.B., Silva E.V.P., Gomes A.M.O., Vasconcelos P.F.C. Bovine lactoferrin activity against Chikungunya and Zika viruses. J Gen Virol., 2017, vol. 98, no.7, pp.1749-1754. doi: 10.1099/jgv.0.000849.
8. Chen J.M., Fan Y.C., Lin J.W., Chen Y.Y., Hsu W.L., Chiou S.S. Bovine Lactoferrin Inhibits Dengue Virus Infectivity by Interacting with Heparan Sulfate, Low-Density Lipoprotein

Receptor, and DC-SIGN. *Int J Mol Sci.*, 2017, vol.18, no.9. pii: E1957. doi: 10.3390/ijms18091957.

9. Cutone A, Lepanto MS, Rosa L, Scotti MJ, Rossi A, Ranucci S, De Fino I, Bragonzi A, Valenti P, Musci G, Berlutti F Aerosolized Bovine Lactoferrin Counteracts Infection, Inflammation and Iron Dysbalance in A Cystic Fibrosis Mouse Model of *Pseudomonas aeruginosa* Chronic Lung Infection. *Int J Mol Sci.* 2019, vol.20, no.9. pii: E2128. doi: 10.3390/ijms20092128.

10. Fischer R., Debbabi H., Blais A., Dubarry M., Rautureau M., Boyaka P.N., Tome D. Uptake of ingested bovine lactoferrin and its accumulation in adult mouse tissues. *Int Immunopharmacol.* 2007; vol.7, no.10, pp.1387-93. doi: 10.1016/j.intimp.2007.05.019

11. Kikkert M. Innate Immune Evasion by Human Respiratory RNA Viruses. *J Innate Immun.* 2020, vol.12, no.1, pp.4-20. doi: 10.1159/000503030.

12. Lang J., Yang N., Deng J., Liu K., Yang P., Zhang G, Jiang C. Inhibition of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparin sulfate proteoglycans. *PLoS One.* 2011, vol.6, no.8, e23710. doi: 10.1371/journal.pone.0023710.

13. Legrand D., Ellass E., Carpentier M., Mazurier J. Lactoferrin: a modulator of immune and inflammatory responses. *Cell Mol Life Sci.*, 2005, vol.62, no.22, pp.2549-59. doi: 10.1007/s00018-005-5370-2

14. León-Sicairos N, Angulo-Zamudio UA, Vidal JE, López-Torres CA, Bolscher JG, Nazmi K, Reyes-Cortes R, Reyes-López M, de la Garza M, Canizalez-Román A. Bactericidal effect of bovine lactoferrin and synthetic peptide lactoferrin chimera in *Streptococcus pneumoniae* and the decrease in luxS gene expression by lactoferrin. *Biometals.* 2014, vol.27, no.5, pp.969-80. doi: 10.1007/s10534-014-9775-y.

15. Levay P.F., Viljoen M. Lactoferrin: a general review. *Haematologica*, 1995; vol.80, pp. 252–267.

16. Maggi E., Canonica G.W., Moretta L. COVID-19: unanswered questions on immune response and pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol.* 2020 May 7. pii: S0091-6749(20)30631-X. doi:10.1016/j.jaci.2020.05.001

17. Mahdi L, Mahdi N, Al-Kakei S, Musaffer H, Al-Joofy I, Essa R, Zwain L, Salman I, Mater H, Al-Alak S, Al-Oqaili R. Treatment strategy by lactoperoxidase and lactoferrin combination: Immunomodulatory and antibacterial activity against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microb Pathog.* 2018, vol.114, pp.147-152. doi: 10.1016/j.micpath.2017.10.056.

18. Sharma S., Sinha M., Kaushik S., Kaur P., Singh T.P. C-lobe of lactoferrin: the whole story of the half-molecule. *Biochem Res Int.*, 2013, vol.2013, Art. ID 271641, 8 pp. doi: 10.1155/2013/271641
19. Reghunathan R., Jayapal M., Hsu L.Y., Chng H.H., Tai D., Leung B.P., Melendez A.J. Expression profile of immune response genes in patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *BMC Immunol.* 2005, vol.6, pp.2.
20. Siqueiros-Cendón T., Arévalo-Gallegos S., Iglesias-Figueroa B.F. García-Montoya I.A., Salazar-Martínez J., Rascón-Cruz Q. Immunomodulatory effects of lactoferrin. *Acta Pharmacol Sin.* 2014, vol. 35, no.5, pp. 557-566. doi: 10.1038/aps.2013.200.
21. Wakabayashi H., Oda H., Yamauchi K., Abe F. Lactoferrin for prevention of common viral infections. *J. Infect. Chemother.*, 2014, vol. 20, pp.666–671. doi: 10.1016/j.jiac.2014.08.003