

Laktoferyna – mechanizmy działania przeciwwirusowego

JOANNA MAŁACZEWSKA, ZOFIA ROTKIEWICZ, ANDRZEJ KRZYSZTOF SIWICKI

Zespół Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej Katedry Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn

Małaczewska J., Rotkiewicz Z., Siwicki A. K.
Lactoferrin – mechanisms for antiviral activity

Summary

Lactoferrin (LF) is an iron-binding protein from the transferrin family present in mucus secretions such as milk, tears, saliva, seminal and vaginal fluids and also found in several organs and blood. It is well known for having antibacterial, immunomodulatory and anti-inflammatory properties. Lactoferrin is also capable of inhibiting the replication of both DNA- and RNA-viruses. Studies indicate that LF inhibits infection of the host cell by directly binding to virus particles or by binding to target cell molecules that the virus uses as a receptor or co-receptor. Additionally, LF regulates the antiviral response of the immune system through stimulating cells which play an important role during the early phases of viral infection, e.g. natural killer cells, monocytes, macrophages and granulocytes. The use of lactoferrin as an antiviral drug has a promising future, especially in cases of patients with immunosuppression.

Keywords: lactoferrin, antiviral activity

Laktoferyna (LF), glikoproteina z rodziny transferyn, obecna w licznych narządach, w błonach surowiczych i ich wydzielinach oraz w drugorzędowych ziarnistościach granulocytów obojętnochłonnych ssaków, jest monomerycznym, dodatnio naładowanym białkiem, złożonym z pojedynczego łańcucha polipeptydowego zwiniętego w dwa kuliste płaty (N- i C-), połączone regionem zawiasowym. Każdy jej płat jest zdolny do wiązania jednego jonu żelaza (Fe^{2+} lub Fe^{3+}), przy czym fizjologicznie LF obecna w organizmie jest zaledwie w 15-20% wysycona żelazem. Fragmentem LF odpowiedzialnym za interakcje tego białka ze strukturami powierzchniowymi komórek organizmu, bakterii, grzybów, jak też cząsteczek wirusowych, jest jej dodatnio naładowany N-końcowy fragment. Laktoferyna ma zdolność wiązania z kilkoma różnymi receptorami błon komórkowych: receptorem 105 kDa, glikozaminoglikanami, receptorem dla reszt LDL (Low Density Lipoprotein) i podjednostką 45 kDa receptora asialoglikoproteinowego. Białko to, poza udziałem w transporcie żelaza, wykazuje również działanie immunomodulujące, przeciwbakteryjne, -grzybicze, -wirusowe, - pasożytnicze, -nowotworowe, -zapalne, jak też aktywność prokoagulantu, czynnika wiążącego żelazo, rybonukleazy, proteazy, czynnika transkrypcyjnego, stymulatora granulopoezy i wiele innych (7, 9).

W ostatnim dziesięcioleciu coraz większą uwagę zwraca się na zdolność LF do hamowania replikacji wirusów. Przeprowadzone do tej pory badania wyka-

zały, że białko to raczej zabezpiecza komórki gospodarza przed zakażeniem wirusowym niż hamuje replikację wirusa po wniknięciu do komórki docelowej, przy czym opisywane są dwa mechanizmy przeciwwirusowego działania LF (31).

Pierwszy polega na wiązaniu LF z cząsteczkami powierzchniowymi błony komórkowej gospodarza, które wykorzystywane są przez wirus jako receptor lub koreceptor. W tym przypadku decydujące znaczenie ma powinowactwo laktoferyny do glikozaminoglikanów, które dla wielu różnych wirusów stanowią miejsce zakotwiczenia we wstępnej fazie zakażenia, przed połączeniem ze swoistymi dla danego wirusa receptorami i właściwą fuzją wirusa z błoną komórki gospodarza. Mechanizm ten najdokładniej przebadany został w stosunku do HSV (*Herpes simplex virus*). Przeciwwirusowe działanie LF w stosunku do tego modelowego wirusa wynika właśnie z jej zdolności do wiązania się z glikozaminoglikanami (GAG) powierzchni komórki. Łańcuchy GAG zbudowane są z powtarzających się jednostek siarczanu heparyny (HS) i siarczanu chondroityny (CS). Wiązanie LF z HS i CS wynika z interakcji elektrostatycznych między ujemnie naładowanymi polisacharydami a grupami aminokwasowymi dodatnio naładowanej N-końcowej części LF. Podobne interakcje zachodzą we wczesnej fazie zakażenia komórki między glikoproteiną C wirusa *Herpes simplex* a HS i CS, podczas gdy interakcja glikoproteiny wirusowej G z HS jest niezbędna do następnego etapu –

wniknięcia wirusa do komórki. Rolę receptora dla HSV może odgrywać też komórkowy receptor LDL, umożliwiający wirionom penetrację w procesie endocytozy. LF posiada zdolność wiązania również z tym receptorem. Hamowanie adsorpcji wirusa do komórek przez LF jest niezależne od jej zdolności wiązania żelaza, w przeciwieństwie do innych substancji chelatujących żelazo, które są znanymi inhibitorami herpeswirusowych reduktaz rybonukleotydowych (1, 16, 18, 20, 24).

Siarczan heparyny jest receptorem również dla HCMV (human cytomegalovirus) i adenowirusów, odpowiada za inicjalne wiązanie HPV (human papillomavirus) z komórkami i, obok receptora asialoglikoproteinowego, stanowi miejsce wiązania HBV (hepatitis B virus) z powierzchnią hepatocytów, stąd również w przypadku tych wirusów hamujące działanie LF wynika z mechanicznego blokowania GAG niezbędnych do procesu adhezji wirusowej (2, 3, 5, 8, 10, 27).

W zakaźności hantawirusów pośredniczą z kolei beta-1 i beta-3 integryny powierzchni komórek. Ponadto lektyny wiążące się z N-acetylogalaktozaminą mogą zwiększać infektywność hantawirusów. LF oprócz zdolności mechanicznego blokowania procesu adhezji wirusowej we wczesnym etapie, związanym z wykorzystaniem przez wirus łańcuchów GAG, prawdopodobnie hamuje również interakcje hantawirus-komórka na poziomie beta-integrin lub przez blokowanie lektyn, co powoduje niższą zakaźność wirusa (22).

Ta forma ochrony komórki przed zakażeniem, wynikająca z blokowania przez LF receptorów wirusowych na powierzchni komórek docelowych, opisana została również dla CHV (canine herpesvirus), FCV (feline calicivirus), FHV (feline herpesvirus) i HIV, choć w przypadku tych wirusów do tej pory nie przebadano szczegółów mechanizmu działania LF (4, 21, 27-29).

Drugi mechanizm przeciwwirusowego działania LF polega na jej bezpośrednim wiązaniu z cząsteczkami wirusa. Ten typ działania najlepiej przebadany został w stosunku do HIV. Za wnikanie HIV-1 do komórek gospodarza odpowiadają interakcje między glikoproteiną otoczkową gp120 wirusa a receptorem CD4 i koreceptorem chemokinowym CCR5 lub CXCR4 na powierzchni komórek docelowych. Skutkują one insercją peptydu fuzyjnego gp41 do błony komórkowej gospodarza i fuzją błony komórkowej z otoczką wirusa. Do wielostopniowej interakcji HIV-1 z komórką prawdopodobnie niezbędne są też inne komponenty komórki gospodarza, jak heparany i galaktocerebrozydy. Przypuszcza się, że w procesie wiązania wirusa z powierzchnią komórki znaczenie mają interakcje między pętlą V3 otoczki wirusa a siarczanem heparyny (HS) powierzchni komórki. Istnieją również doniesienia o oddziaływaniu między HS a domeną fuzyjną gp41. Ważną rolę w kontakcie między cząsteczkami wirusa HIV a komórkami gospodarza odgrywają również oddziaływania elektrostatyczne. Stąd różne cząsteczki posiadające ładunek mogą blokować wnikanie HIV do komórek (heparyna, siarczan dekstranu). Hamowanie wirusa przez ujemnie

naładowane cząsteczki wynika ze specyficznych interakcji między innymi z dodatnio naładowaną domeną V3 białka otoczkowego wirusa, jednakże możliwe jest również, że hamowanie wynika z niespecyficznych oddziaływań ładunek-ładunek, które blokują wiązanie wirus-gospodarz, nie wymagających precyzyjnej sekwencji aminokwasów zarówno w inhibitorze białkowym, jak i cząsteczce będącej jego celem. Stąd wynika fakt blokowania replikacji HIV również przez dodatnio naładowane czynniki, które mogą wchodzić w interakcje z ujemnie naładowanym koreceptorem CXCR4. LF ma zdolność hamowania wariantów HIV używających koreceptorów CXCR4 lub CCR5. Wykazano, że LF silnie wiąże się z pętlą V3 białka otoczkowego gp120, a opłaszczenie tej domeny powoduje hamowanie fuzji i wnikania wirusa do komórek. Przypuszczalnie interakcje LF z tym regionem zwiększają również ujemny ładunek cząsteczek wirusa, co z kolei wpływa na elektrostatyczne interakcje między wirusem a komórką (6, 23, 27, 28).

W przypadku HCV (hepatitis C virus) również wykazano zdolność LF do wiązania się z białkami otoczkowymi wirusa (E1 i E2), które odpowiadają za wiązanie HCV z receptorem zakażanej komórki (12, 13).

Doświadczalnie mechanizm przeciwwirusowego działania LF polegający na jej wiązaniu z cząsteczkami wirusa potwierdzono również w stosunku do HSV, HGTV (hepatitis G virus), CHV, polio- i rotawirusów, choć nie zbadano jego szczegółów (19, 25, 26).

W przypadku wielu wirusów działanie LF było wypadkową obu mechanizmów. Białko miało zdolność zarówno łączenia się z cząsteczkami wirusa, jak i mechanicznego blokowania ich receptorów komórkowych. Takie kombinowane działanie zaobserwowano w stosunku do CHV, FHV, HIV i FCV (4, 6, 21, 27-29).

Rola laktoferyny w infekcjach wirusowych nie ogranicza się jedynie do opisanych mechanizmów działania. Białko to oddziałuje także na układ immunologiczny, wpływając na odpowiedź przeciwwirusową organizmu. W tym przypadku decydujące znaczenie ma zdolność LF do wzmagania aktywności komórek odgrywających rolę we wczesnych etapach infekcji wirusowej (komórki NK, monocyty, makrofagi, granulocyty), do kontroli produkcji cytokin i regulowania humoralnej i komórkowej odpowiedzi immunologicznej (7, 31).

Powyższe spostrzeżenia odnośnie do przeciwwirusowego działania LF poczyniono w warunkach *in vitro*, stosunkowo niewiele jest natomiast informacji o działaniu LF *in vivo*. Badania kliniczne z zastosowaniem LF na najszerszą do tej pory skalę prowadzono u pacjentów z przewlekłą postacią zapalenia wątroby typu C. Sześciomiesięczna doustna terapia LF powodowała znaczne (około 50%) obniżenie poziomu HCV RNA w surowicy chorych. Niestety, efekt ten był przejściowy. Już w 2 miesiące po zaprzestaniu kuracji poziom HCV RNA w surowicy wzrastał, jednak do poziomu niższego niż wyjściowy. Inna grupa badaczy, po prze-

testowaniu rocznej doustnej terapii LF, stwierdziła szybki wzrost poziomu IL-18 w surowicy od momentu rozpoczęcia leczenia, ze szczytem w 3. miesiącu. Po tym okresie następował spadek ilości IL-18 aż do poziomu wyjściowego, co sugerować może tolerancję organizmu na długo przyjmowane białko. Ponieważ LF jest oporna na proteolizę, 60-80% dawki doustnej osiąga jelito cienkie, gdzie znajdują się receptory dla LF. Białko podawane tą drogą wzmacnia wytwarzanie IL-18 w komórkach nabłonka jelitowego, a z kolei IL-18 wzmacnia produkcję IFN- γ i aktywuje limfocyty T CD4+ (Th1), które wytwarzają IFN- γ (11, 14, 15).

Przeprowadzono również testy kliniczne na zwierzęcych modelach ludzkich schorzeń wywoływanych przez HSV, HCMV i retrowirusy (AIDS-like disease). Wykazały one skuteczność LF u myszy zakażonych eksperymentalnie HSV. LF podawana prewencyjnie lub od momentu zakażenia powodowała 90% spadek miana wirusa u zakażonych zwierząt. Z kolei LF zastosowana na szczurzym modelu CMV obniżała końcowe miano wirusa u zwierząt z immunosupresją o ponad 1 log w 4. tygodniu po zakażeniu (4, 5).

Interesujące wyniki badań uzyskano natomiast podając LF myszom w zwierzęcym modelu AIDS (AIDS-like disease). Jednoczesne wprowadzenie wirusa i LF nie wpływało na postęp choroby. Podanie leku 20 dni przed zakażeniem powodowało zahamowanie rozwoju objawów klinicznych (wysoki poziom limfocytów, WBC, CD4 i CD8 oraz brak splenomegalii). Stan ten utrzymywał się przez 2 miesiące, nie był jednak permanentny. W końcowym stadium choroby (196. dzień) efekt działania LF został całkowicie zniesiony, co wskazuje na prewencyjną rolę LF w ograniczonym okresie. Odwrotny efekt działania (zaostrenie objawów) obserwowano przy podaniu LF w 20 dni po zakażeniu. Nie wyjaśniono, dlaczego podanie leku na różnych etapach infekcji wywierało przeciwny skutek i dlaczego pozytywny efekt działania LF był znoszony w późnym etapie choroby. LF podawano także doustnie kotom FIV pozytywnym z nie poddającym się leczeniu zapaleniem jamy ustnej. Objawy kliniczne schorzenia zostały zredukowane, ponadto obserwowano wzrost aktywności fagocytarnej granulocytów obojętnochłonnych (17).

Obecnie LF jest izolowana na skalę przemysłową z serwatki i odtłuszczonego mleka i stosowana w produkcji immunostymulatorów, mieszanek dla niemowląt, suplementów żelaza dla ludzi, fermentowanych produktów mlecznych, napojów, gum do żucia, kosmetyków oraz gotowych pasz i ich suplementów dla zwierząt domowych. Wzbogacenie produktów spożywczych w LF, z uwzględnieniem faktu, że LF połączona z żelazem jest relatywnie odporna na jelitowe enzymy proteolityczne (duże ilości niestrawionej LF i jej dużych fragmentów izolowano z moczu i kału dzieci otrzymujących LF doustnie), może okazać się dobrą metodą ochrony przed zakażeniami spowodowanymi przez wirusy jelitowe, jak rotawirusy, będące najważniejszym czynnikiem etiologicznym ostrych schorzeń przebiega-

jących z biegunką, które są jedną z głównych przyczyn śmiertelności niemowląt i małych dzieci w krajach rozwijających się (7, 25, 26, 30).

Poziom LF w surowicy krwi wzrasta w czasie infekcji na skutek jej uwalniania z neutrofilów, aż do ilości odpowiadającej stężeniu LF wykazującemu aktywność przeciwwirusową *in vitro*. Stąd również sens podawania LF pacjentom po transplantacji szpiku kostnego i z innymi postaciami upośledzenia układu immunologicznego (31).

Ze względu na specyfikę działania LF, najczęściej rozważane jest jej zastosowanie w terapii kombinowanej, jako środka uzupełniającego działanie rutynowo do tej pory stosowanych leków przeciwwirusowych, zwłaszcza, że wykazano synergistyczne działanie tego białka z interferonem, acyclovirem i cidofoviem, lekami powszechnie stosowanymi u ludzi w leczeniu zakażeń HCV, HSV i HCMV (1, 11, 14, 15, 32).

HCV jest wirusem o dużej zmienności genetycznej, co stanowi poważną przeszkodę w produkcji szczepionek i leków. Do tej pory w terapii schorzenia z pozytywnym skutkiem stosowano jedynie interferon, ale jego efektywność nie przekraczała 30% przypadków. Ponadto przyjmowanie IFN może powodować poważne efekty uboczne, uniemożliwiające stosowanie terapii. Ryzyko wystąpienia ubocznych skutków stosowania LF jest małe (naturalne białko mleka), a kombinowana terapia (LF i IFN) może okazać się bardziej skuteczna ze względu na inne mechanizmy przeciwwirusowego działania obu substancji. Ponieważ efekt działania LF utrzymywał się około 3 miesiące, rozsądne mogłoby być jej podawanie przez 3 miesiące przed wprowadzeniem IFN. W opozycji do powyższych spostrzeżeń stoją jednak wyniki doświadczenia Hirashimy i wsp. (11), którzy stwierdzili brak statystycznie istotnych różnic w odpowiedzi na wirus między grupami chorych przyjmującymi sam IFN i kombinację LF + IFN (11, 14, 15).

Terapia zakażeń HSV bazuje głównie na stosowaniu acycloviru i innych analogów nukleozydów. Problemem jest coraz częstsze występowanie lekoopornych szczepów HSV. Zaobserwowano synergistyczne działanie LF w kombinacji z acyclovirem w stosunku do HSV, a dawka efektywna leków w przypadku terapii kombinowanej była zredukowana 2-7-krotnie w stosunku do dawki wymaganej przy lekach używanych oddzielnie. Użycie leków w kombinacji zwiększa ich skuteczność ze względu na inne mechanizmy działania (acyclovir – inhibitor wirusowej polimerazy DNA – hamuje replikację, a LF działa we wczesnych etapach infekcji), redukuje niebezpieczeństwo powstania opornych szczepów wirusów, a także zmniejsza ryzyko cytotoksyczności (niższe dawki poszczególnych leków) (1).

Objawowe zakażenia HCMV (human cytomegalovirus) zwykle leczy się przy użyciu gancycloviru, foscarnetu i cidofoviru, jednak ich długoterminowe stosowanie prowadzi do wystąpienia poważnych efektów ubocznych i powstawania lekooporności. LF wykazywała działanie synergistyczne w kombinacji z cidofo-

virem. Cidofovir jest analogiem cytozyny, ze względu na swój ujemny ładunek, słabo przenikającym ścianę komórkową. Mechanizm współdziałania obu leków nie został do tej pory dostatecznie wyjaśniony, przypuszcza się jednak, że dodatnio naładowana LF łącząc się z cidofowirem, ułatwia jego wnikanie do docelowych komórek, choć nie wykazano *in vitro* łączenia się obu leków. Drugi mechanizm synergii wynikać może z zaburzenia przez LF struktury błony komórkowej, co zwiększa endocytozę i wchłanianie cidofoviru. Najprawdopodobniej jednak synergizm wynika z faktu oddziaływania leków na dwa różne etapy replikacji wirusowej. LF hamuje wnikanie wirusa do komórki, powodując mniejszą ilość wirusa w komórce, a cidofovir łatwiej radzi sobie z tą małą ilością, zaburzając syntezę wirusowego DNA (32).

Choć do tej pory nie przeprowadzono stosownych badań klinicznych, przypuszcza się, że LF mogłaby znaleźć zastosowanie również w terapii brodawczycy narządów płciowych, wywoływanej przez ludzki papillomawirus (HPV). Obecnie w leczeniu tego schorzenia wykorzystuje się dwa preparaty roślinne – podophyllotoxin i podofilox, hamujące podział mitotyczny komórek gospodarza zakażonych HPV oraz analog nukleozydowy – imiquimod, działający jako induktor odpowiedzi immunologicznej, powodujący regresję schorzenia. Nie są to jednak leki o wysokiej skuteczności, a w badaniach przeprowadzonych *in vitro* potwierdzono skuteczność LF we wczesnych etapach zakażenia komórki przez HPV (8).

Podsumowując – laktoferyna, białko naturalnego pochodzenia ma szansę znaleźć szerokie zastosowanie w leczeniu i prewencji schorzeń wirusowych ludzi i zwierząt, zwłaszcza w dobie narastającej oporności drobnoustrojów i zwiększonej liczby pacjentów z obniżoną reaktywnością układu immunologicznego. LF wydaje się idealnym terapeutycznym, ponieważ hamuje replikację wirusową na poziomie wiązania wirusa z komórką, nie wpływając na normalny metabolizm komórek gospodarza. Inne jej zalety to: dostępność, niska cytotoksyczność i niewielkie ryzyko wystąpienia ubocznych skutków stosowania (4, 7, 30).

Piśmiennictwo

1. Andersen J. H., Jenssen H., Gutteberg T. J.: Lactoferrin and lactoferricin inhibit Herpes simplex 1 and 2 infection and exhibit synergy when combined with acyclovir. *Antivir. Res.* 2003, 58, 209-215.
2. Andersen J. H., Osbak S. A., Vorland L. H., Traavik T., Gutteberg T. J.: Lactoferrin and cyclic lactoferricin inhibit the entry of human cytomegalovirus into human fibroblasts. *Antivir. Res.* 2001, 51, 141-149.
3. Arnold D., Di Biase A. M., Marchetti M., Pietrantoni A., Valenti P., Seganti L., Superti F.: Antiadenovirus activity of milk proteins: lactoferrin prevents viral infection. *Antivir. Res.* 2002, 53, 153-158.
4. Beaumont S. L., Maggs D. J., Clarke H. E.: Effects of bovine lactoferrin on *in vitro* replication of feline herpesvirus. *Vet. Ophthalmol.* 2003, 6, 245-250.
5. Beljaars L., van der Strate B. W. A., Bakker H. I., Reker-Smit C., van Loenen-Weemaes A., Wiegman F. C., Harmsen M. C., Molema G., Meijer D. K. F.: Inhibition of cytomegalovirus infection by lactoferrin *in vitro* and *in vivo*. *Antivir. Res.* 2004, 63, 197-208.
6. Berkhout B., van Wamel J. L. B., Beljaars L., Meijer D. K. F., Visser S., Floris R.: Characterization of the anti-HIV effects of native lactoferrin and other milk proteins and protein-derived peptides. *Antivir. Res.* 2002, 55, 341-355.
7. Brock J. H.: The physiology of lactoferrin. *Biochem. Cell. Biol.* 2002, 80, 1-6.

8. Drobni P., Näslund J., Evander M.: Lactoferrin inhibits human papillomavirus binding and uptake *in vitro*. *Antivir. Res.* 2004, 64, 63-68.
9. Farnaud S., Evans R. W.: Lactoferrin – a multifunctional protein with antimicrobial properties. *Mol. Immunol.* 2003, 40, 395-405.
10. Hara K., Ikeda M., Saito S., Matsumoto S., Numata K., Kato N., Tanaka K., Sekihara H.: Lactoferrin inhibits hepatitis B virus infection in cultured human hepatocytes. *Hepatol. Res.* 2002, 24, 228-235.
11. Hirashima N., Orito E., Ohba K., Kondo H., Sakamoto T., Matsunaga S., Kato A., Nukaya H., Sakakibara K., Ohno T., Kato H., Sugauchi F., Kato T., Tanaka Y., Ueda R., Mizokami M.: A randomized controlled trial of consensus interferon with or without lactoferrin for chronic hepatitis C patients with genotype 1b and high viral load. *Hepatol. Res.* 2004, 29, 9-12.
12. Ikeda M., Nozaki A., Sugiyama K., Tanaka T., Naganuma A., Tanaka K., Sekihara H., Shimotohno K., Saito M., Kato N.: Characterization of antiviral activity of lactoferrin against hepatitis C virus infection in human cultured cells. *Virus Res.* 2000, 66, 51-63.
13. Ikeda M., Nozaki A., Sugiyama K., Tanaka T., Tanaka K., Sekihara H., Shimotohno K., Kato N.: Lactoferrin markedly inhibits hepatitis C virus infection in cultured human hepatocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998, 245, 549-553.
14. Ishii K., Takamura N., Shinohara M., Wakui N., Shin H., Sumino Y., Ohmoto Y., Teraguchi S., Yamauchi K.: Long-term follow-up of chronic hepatitis C patients treated with oral lactoferrin for 12 months. *Hepatol. Res.* 2003, 25, 226-233.
15. Iwasa M., Kaito M., Ikoma J., Takeo M., Imoto I., Adachi Y., Yamauchi K., Koizumi R., Teraguchi S.: Lactoferrin inhibits hepatitis C virus viremia in chronic hepatitis C patients with high viral loads and HCV genotype 1b. *Am. J. Gastroenterol.* 2002, 97, 766-767.
16. Jenssen H., Andersen J. H., Uhlin-Hansen L., Gutteberg T. J., Rekdal Ø.: Anti-HSV activity of lactoferricin analogues is only partly related to their affinity for heparan sulfate. *Antivir. Res.* 2004, 61, 101-109.
17. Lubashevsky E., Krifucks O., Paz R., Brenner J., Savransky S., Trainin Z., Ungar-Waron H.: Effect of bovine lactoferrin on a transmissible AIDS-like disease in mice. *Comp. Immunol. Microb.* 2004, 27, 181-189.
18. Marchetti M., Longhi C., Conte M. P., Pisani S., Valenti P., Seganti L.: Lactoferrin inhibits herpes simplex virus type 1 adsorption to Vero cells. *Antivir. Res.* 1996, 29, 221-231.
19. Marchetti M., Superti F., Ammendolia M. G., Rossi P., Valenti P., Seganti L.: Inhibition of poliovirus type 1 infection by iron-, manganese- and zinc-saturated lactoferrin. *Med. Microbiol. Immun.* 1999, 187, 199-204.
20. Marchetti M., Trybala E., Superti F., Johansson M., Bergström T.: Inhibition of herpes simplex virus infection by lactoferrin is dependent on interference with the virus binding to glycosaminoglycans. *Virology* 2004, 318, 405-413.
21. McCann K. B., Lee A., Wan J., Roginsky H., Coventry M. J.: The effect of bovine lactoferrin and lactoferricin B on the ability of feline calicivirus (a norovirus surrogate) and poliovirus to infect cell cultures. *J. Appl. Microbiol.* 2003, 95, 1026-1033.
22. Murphy M. E., Kariwa H., Mizutani T., Yoshimatsu K., Arikawa J., Takashima I.: *In vitro* antiviral activity of lactoferrin and ribavirin upon hantavirus. *Arch. Virol.* 2000, 145, 1571-1582.
23. Puddu P., Borghi P., Gessani S., Valenti P., Belardelli F., Seganti L.: Antiviral effect of bovine lactoferrin saturated with metal ions on early steps of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 1998, 30, 1055-1063.
24. Siciliano R., Rega B., Marchetti M., Seganti L., Antonini G., Valenti P.: Bovine lactoferrin peptidic fragments involved in inhibition of herpes simplex virus type 1 infection. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999, 264, 19-23.
25. Strate B. W. A., van der Beljaars L., Molema G., Harmsen M. C., Meijer D. K. F.: Antiviral activities of lactoferrin. *Antivir. Res.* 2001, 52, 225-239.
26. Strate B. W. A., van der Boer F. M., Bakker H. I., Meijer D. K. F., Molema G., Harmsen M. C.: Synergy of bovine lactoferrin with the anti-cytomegalovirus drug cidofovir *in vitro*. *Antivir. Res.* 2003, 58, 159-165.
27. Superti F., Ammendolia M. G., Valenti P., Seganti L.: Antiviral activity of milk proteins: lactoferrin prevents rotavirus infection in the enterocyte-like cell line HT-29. *Med. Microbiol. Immun.* 1997, 186, 83-91.
28. Superti F., Siciliano R., Rega B., Giansanti F., Valenti P., Antonini G.: Involvement of bovine lactoferrin metal saturation, sialic acid and protein fragments in the inhibition of rotavirus infection. *Biochimica et Biophysica Acta* 2001, 1528, 107-115.
29. Swart P. J., Harmsen M. C., de Bethune M. P., Pauwels R., De Clercq E., The T. H., Meijer D. K. F.: Antiviral effects of plasma and milk proteins: lactoferrin shows potent antiviral activity on both HIV and HCMV replication *in vitro* in the same concentration range. *Antivir. Res.* 1996, 30, A 35.
30. Swart P. J., Kuipers M. E., Smit C., De Clercq E., Huisman H., Meijer D. K. F.: Antiviral effect of milk proteins: acylation results in polyanionic compounds with potent activity against HIV type I and II *in vitro*. *Antivir. Res.* 1996, 30, A 41.
31. Tanaka T., Nakatani S., Xuan X., Kumura H., Igarashi I., Shimazaki K.: Antiviral activity of lactoferrin against canine herpesvirus. *Antivir. Res.* 2003, 60, 193-199.
32. Tomita M., Wakabayashi H., Yamauchi K., Teraguchi S., Hayasawa H.: Bovine lactoferrin and lactoferricin derived from milk: production and applications. *Biochem. Cell Biol.* 2002, 80, 109-112.

Adres autora: dr Joanna Malaczewska, ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn; e-mail: stenia@uwm.edu.pl