

LAKTOFERYNA – CO NOWEGO?

LACTOFERIN – WHAT IS NEW?

Jerzy Szczapa¹

STRESZCZENIE

Laktoferyna (Lf) wykazuje wielokierunkowe działanie w regulacji układu odpornościowego. Szczególnie interesująca jest jej zdolność do wiązania i neutralizacji lipopolisacharydowych endotoksyn bakteryjnych (LPS) uwalnianych przez bakterie Gram(-), które są często obecne w produktach żywnościowych, również w mleku modyfikowanym. Laktoferyna poprzez działanie hamujące wzrost LPS, zmniejsza powstanie stanu zapalnego i ogranicza wystąpienie niewydolności wielonarządowej. Wykazano, że jej skuteczność działania zależna jest od wczesnego zastosowania, wysokiej jakości oraz braku skażenia LPS zarówno w efektach klinicznych, jak i badaniach naukowych. Stwierdzono również, że podaż Lf z żelazem skutecznie wyrównuje niedokrwistość niemowląt. Ponadto potwierdzono, że w przypadku zakażenia *in vitro* i *in vivo* SARS-CoV2, efektywne jest działanie LF w profilaktyce i leczeniu. Należy podkreślić, że konieczne są dalsze badania dotyczące Lf: wskazań, czasu trwania podaży, dawki.

SŁOWA KLUCZOWE: Laktoferyna, lipopolisacharydy, SARS-CoV-2, gospodarka żelazem

ABSTRACT

Lactoferin (Lf) is a multifunctional glycoprotein with immune modulating function. Available evidence indicates that Lf neutralizes bacterial endotoxins released by Gram negative bacteria. Lf presents anti-inflammatory activity and protects against the toxic effects of LPS induced endotoxemia. Biological activities of Lf depend on the purity of Lf. Recent studies suggest anti-SARS-CoV-2 activity and influence on iron homeostasis. Future research is required to determine Lf effects on immune function and its optimal dosing.

KEY WORDS: Lactoferin, quality affecting lipopolysaccharide, SARS-CoV-2 activity, iron homeostasis

WSTĘP

Laktoferyna (Lf), glikoproteina o wielokierunkowym działaniu jest jednym z głównych elementów odporności wrodzonej. W organizmie człowieka w warunkach zdrowia jest produkowana w niewielkich ilościach przez granulocyty, a jej wysokie stężenie (~7g/litr) jest stwierdzone przejściowo w sierze [1]. Lf spełnia bardzo ważną rolę w kształtowaniu odporności u człowieka, wykazując działanie przeciwzapalne, immunomodulacyjne, antyoksydacyjne oraz szerokie spektrum oddziaływania przeciwko drobnoustrojom, bakteriom, wirusom oraz grzybom [2]. Lf występuje w trzech różnych izoformach: Laktoferyna α , β , γ [4]. Laktoferyna α posiada zdolność wiązania jonów żelaza. Każda jej cząsteczka wiąże 2 atomy żelaza, ograniczając dostępność Fe dla patogennych drobnoustrojów, dla których jest ważnym czynnikiem wzrostu. Wiązanie przez Lf jonów żelaza w przypadku zakażenia lub zapalenia wywołuje działanie bakteriostatyczne, zmniejszając proliferację i wzrost drobnoustrojów. Zdolność ograniczenia wzrostu drobnoustrojów dotyczy również wirusów oraz grzybów [5]. Lf ludzka i Lf bydlęca wykazuje wysoki stopień homologacji (69%) oraz identyczne wielokierunkowe działanie [3]. Jej aktywność biologiczna następuje poprzez interakcje

ze swoistymi receptorami obecnymi w wielu tkankach oraz różnorodnych typach komórek jak CD14, intelectina-1, toll-like receptor 2 i 4. Ponadto wiąże się z proteoglikanami siarczanu heparanu (HSPGs), które znajdują się na powierzchni komórek oraz makrocząsteczkowej macierzy komórkowej [6]. Lf jest również biomarkerem wykazującym wzrost w różnorodnych rodzajach chorób dotyczących układu oddechowego, neurologicznego, rozrodczego, alergii oraz zakażeń [6]. Ciągłe poznawane są nowe obszary działania Lf. Jednym z nich jest jej przeciwzapalne działanie związane z oddziaływaniem na prozapalne egzogenne cząsteczki, główne lipopolisacharydy.

ZNACZENIE BIOLOGICZNE LIPOPOLISACHARYDÓW

Lipopolisacharydy (LPS) są głównym elementem zewnętrznej części błony komórkowej bakterii Gram(-) określanymi również jako endotoksyny, które mogą wywołać ostry stan zapalny w organizmie człowieka. Uwalniane są w czasie zakażenia, ale mogą być stwierdzone w dużych ilościach w pokarmach. Wykazano, że są odporne na działanie wysokich temperatur oraz niskiego pH. Występują w wielu pokarmach, a ich obecność w jelitach stymuluje stan

¹ UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, Akademia Nauk Stosowanych w Poznaniu

Adres do korespondencji: Jerzy Szczapa, Akademia Nauk Stosowanych im. Księcia Mieszka I w Poznaniu, ul. Bułgarska 55, 60-320 Poznań, tel. 61 832 11 79, e-mail: jerzy.szczapa@gmail.com

zapałny [11]. Wpływ LPS na zdrowie człowieka nie jest dokładnie określony. Wykazano jednak, że wysokie stężenie endotoksyn w jelitach może prowadzić do uszkodzenia bariery jelitowej i wywołać nasilony stan zapalny. Wysokie stężenie endotoksyn wykazano w krwi pacjentów z otyłością, zapaleniem trzustki, niealkoholowym stłuszczeniem wątroby, cukrzycy typu 2, chorobie Alzheimera [13]. Powyższe obserwacje wskazują, że wysokie stężenie endotoksyn w pożywieniu, w tym mleku, może stanowić zagrożenie dla zdrowia. Konieczne jest szczególnie określenie limitu LPS w produktach żywnościowych dla dzieci, które ograniczy potencjalne zagrożenia dla prawidłowego rozwoju [12]. Nasilone uwalnianie LPS w czasie bakteriemii wywołuje uogólniony stan zapalny, związany z stymulacją produkcji prozapalnych mediatorów, jak cytokiny (IL-1 β , IL-8, TNF α), prostaglandyny, wpływa na powstanie zaburzeń koagulologicznych prowadzących do hipotermii, zakrzepicy wewnątrznaczyniowej oraz niewydolności wielonarządowej, które cechuje wstrząs septyczny. Prozapalne czynniki są aktywowane i wytwarzane poprzez tworzenie kompleksów LPS z ich receptorami. Wykazano zarówno w badaniach *in vitro*, jak *in vivo*, że czynnikami neutralizującymi działanie LPS są probiotyki i Lf, które wyzwalają szereg mechanizmów obniżających prozapalne działanie LPS. Lf wiąże się z lipopolisacharydami błony komórkowej bakterii Gram(-), destabilizując błonę komórkową, co prowadzi do wzrostu jej przepuszczalności, zwiększając wrażliwość bakterii na zniszczenie przez układ odpornościowy i antybiotyki. Ponadto LF wiąże wolno krążące cząsteczki LPS, zapobiegając zapaleniu [14]. Neutralizacja LPS ogranicza produkcję prozapalnych cytokin, hamując zapalenie, zmniejsza ryzyko powstania sepsy i wstrząsu septycznego. Osłabia również produkcję wolnych rodników tlenowych, których uwalnianie jest indukowane LPS [7, 8]. Wyniki badań eksperymentalnych sugerują, że mechanizm działania Lf związany jest z wpływem na osłabienie działania jądrowego czynnika Kappa B (NF-KB), co pozwala na utrzymanie integralności bariery komórkowej oraz zmniejszeniem działania stresu oksydacyjnego [9]. W kolejnym badaniu doświadczalnym wykazano, że LF wywołuje ochronne działanie na barierę jelitową, nasilając proliferację nabłonka jelitowego oraz normalizuje uwalnianie cytokin obniżając indukowaną LPS reakcję zapalną w jelitach [10]. Reasumując należy stwierdzić, że Lf wykazuje szereg działań skutecznie prowadzących do neutralizacji LPS, będąc kluczowym elementem odporności. Jej działanie obejmuje bezpośrednie działanie bakteriostatyczne, bakteriobójcze ograniczające wiązanie drobnoustrojów z komórkami gospodarza, co wywołuje efekt przeciwwapalny, zapobiegając uszkodzeniu tkanek i wstrząsowi septycznemu. Może również wpływać na aktywację, różnicowanie i proliferację komórek odpornościowych poprzez promocję ich aktywności. Immunomodulacyjne właściwości LF wskazują na jej potencjalne możliwości profilaktyczne i lecznicze.

Badania wykazały częste występowanie LPS w produktach żywnościowych przeznaczonych dla dzieci. Szczególnym źródłem endotoksyn bakteryjnych są mieszanki mleczne, które mogą zawierać ilości endotoksyn wpływających na zakażenie u dziecka. Stwierdzono, że w proszku mlecznym stężenie LPS może się mieścić w granicach od 40 EU/g do 55000 EU/g [15]. Stanowi to ekwiwalent 0,067-91,67 $\mu\text{g}/\text{kg}$ endotoksyn na dobę (kalkulowane dla niemowlęcia o masie ciała 6 kg i 100 g mleka w proszku na dobę). Możliwość usunięcia LPS z mieszanki mlecznej poprzez działanie wysokiej temperatury jest ograniczone, ponieważ endotoksyny bakteryjne wykazują wyjątkowo wysoką oporność na jej działanie nawet po zastosowaniu 250°C, pozostając w mieszanke mlecznej. Głównym źródłem LPS są bakterie Gram(-), jak: *E. coli*, *Salmonella*, *Enterobacteriaceae* i *Listeria monocytogenes*. Food and Drug Administration (FDA) określiło, że całkowita liczba drobnoustrojów w ml mleka nie powinna przekraczać 5 mln/ml [16]. Aktualnie nie ma standardu określającego limit zawartości endotoksyn w mieszankach mlecznych, mających wpływ na powstanie zaburzeń chorobowych u dziecka. Jednakże, rodzaj pokarmu i zawartości LPS mogą mieć istotny wpływ nie tylko na rodzaj kolonizacji bakteryjnej po urodzeniu dziecka, ale również na powstanie zaburzeń w homeostazie jelitowej i stanu zapalnego jelit wpływającego na ogólny stan zdrowia dziecka. Ilość LPS w mleku w proszku mieści się w granicach od 40-55000 jednostek endotoksyny, co odpowiada 4-5500 $\mu\text{g}/\text{g}$. Standardowe spożycie około 3000 g mleka w proszku przez miesiąc u dziecka 6kg może wiązać się z przyjęciem doustnym około 16,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ endotoksyn. Ilość ta stanowi poważne obciążenie układu odpornościowego dziecka z niedojrzałym układem odpornościowym [17]. Doustna podaż endotoksyn może istnie wpływać na wzrost stężenie poziomu cytokin IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-18 oraz TNF- α , które mogą mieć związek z powstaniem takich zaburzeń u noworodka jak: NEC, krwawienie dokomorowe, leukomalacja okołokomorowa i dysplazja oskrzelowo-płucna. Wysokie stężenie LPS w pokarmie może również wpływać na aktywności biologiczną Lf, a także wyniki prowadzonych badań nad wpływem Lf na stan kliniczny, florę bakteryjną oraz gospodarkę żelaza w zakażeniach [18]. Badania wykonane z Lf wolną od LPS wykazują o wiele większą jej aktywność biologiczną [19]. Ostatnio określono wymogi dotyczące jakości Lf produkowanej przemysłowo. Produkcję przemysłową LF rozpoczęto w 1985 roku w Belgii a następnie w 1986 w Japonii. Aktualnie jest produkowana przez wiele firm. Zawartość LPS (endotoksyn) w próbkach przemysłowo produkowanej Lf jest zmienna. Wymogi dotyczące produkcji i standaryzacji jakości Lf zostały określone w 2012 roku przez Europejską Komisję ds. Nowej Żywności oraz FDA. Przyjęte ustalenia określiły LF jako produkt żywnościowy generalnie bezpieczny w 2014 roku. Określono w nich stopień zawartości Lf

w produkcie, który winien przekraczać 95% czystego białka. Ustalono ilości LPS w przemysłowo uzyskanej Lf, która może zawierać maksimum 1 cząsteczkę LPS na 1724 cząsteczki Lf. Oznacza to, że 99,9% cząsteczek Lf powinna być wolna od LPS [20]. Nie wszyscy producenci LF realizują powyższe zalecenia. Wskazuje się, że wysoka jakość LF i jej staranne przechowywanie mają istotne znaczenie w efektach klinicznych, jak i w wynikach badań. Z powyższych względów stosowanie w praktyce czystej Lf może mieć kluczowe znaczenie.

BADANIA KLINICZNE

W ostatnim okresie czasu ukazało się szereg prac oceniających wpływ podaży Lf na przebieg zakażeń bakteryjnych, wirusowych oraz funkcje odpornościowe zarówno u dzieci, jak i osób dorosłych. Jedną z nich jest metaanaliza 6 randomizowanych badań klinicznych, która objęła około 6 tysięcy wcześniaków urodzonych między 32 a 36 t.c. oraz noworodków z bardzo małą urodzeniową masą ciała (< 1500 g). Część z nich otrzymała dodatkowo oprócz Lf również probiotyki. Po podaży Lf stwierdzono obniżenia ryzyka późnej sepsy, martwiczego zapalenia jelit II i III°. Nie wykazano natomiast wpływu na umieralność. W populacji dzieci, które otrzymywały dodatkowo probiotyki wykazano również zmniejszenie ryzyka wystąpienia późnej sepsy oraz NEC II i III°. Podaż Lf nie miała wpływu na powstanie przewlekłej choroby płuc oraz czasu pobytu w szpitalu. Autorzy wskazywali na niską jakość publikowanych wyników oraz konieczność określenia w kolejnych badaniach rodzaju Lf, dawki oraz wyników długoterminowych [21]. W kolejnym badaniu RCT oceniono wpływ rodzaju karmienia u wcześniaków (pokarm matki, pokarm od dawcy, mieszanka mleka modyfikowanego) na powstanie zakażenia. Wykazano, że suplementacja mieszanki mleka modyfikowanego Lf była bardziej efektywna w profilaktyce późnej sepsy niż karmienie pokarmem matki. Może to wskazywać na ochronne działanie Lf przed zakażeniem [22]. W metaanalizie Poggi M. i wsp., które objęło 12 badań RCT dotyczących wpływu zastosowania Lf u wcześniaków stwierdzono zmniejszenie częstości występowania późnej sepsy bakteryjnej i grzybiczej, skrócenie czasu hospitalizacji i infekcji układu moczowego. Nie wykazano natomiast istotnego obniżenia częstości NEC, umieralności oraz zaburzeń neurorozwojowych. Podkreślono dużą niejednorodność badań dotyczących zastosowanych metod prowadzonych badań, co ogranicza wiarygodność uzyskanych wyników [23]. W jednej z ostatnich publikowanych metaanaliz, w której dokonano przeglądu 25 badań dotyczących wpływu podaży Lf na stan układu odpornościowego oraz zapobiegania zakażeniom układu oddechowego zarówno u osób dorosłych, jak i u dzieci wykazano, że podaż Lf była powiązana z obniżeniem częstości i czasu trwania (o 50%) zakażeń układu oddechowego u dzieci, którego nie obserwowano u osób dorosłych. Ponadto stwierdzono po suplementacji Lf obniżenie stężenia prozapalnie działającej cytokiny-IL-6 przy braku zmian dotyczących CRP [24].

Informacje dotyczące skutecznej dawki leczniczej Lf u ludzi są ograniczone, jednak dostępne dane wskazują, że podaż 200 mg Lf może obniżyć nasilenie procesu zapalnego. Wzbogacenie mieszanki mlecznej Lf w dawce 35-833 mg/dobę może poprawić funkcje odpornościowe i zmniejszać częstość występowania infekcji układu oddechowego u niemowląt oraz dzieci [24]. Ze względu na małą liczbę badań klinicznych i ich heterogenność nie jest możliwe aktualne określenie optymalnej strategii suplementacji.

LAKTOFERYNA W PROFILAKTYCE I LECZENIU NIEDOKRWISTOŚCI NIEMOWŁĄT

Wykazano, że obecność Lf w pokarmie kobiecym oraz mieszankach mlecznych zwiększa absorpcję żelaza [25]. Stwierdzono, że suplementacja mieszanki mlecznej Lf może istotnie zwiększyć poziom ferrytyny w osoczu krwi, liczbę retikulocytów oraz wzrost hematokrytu [26]. W jednym z ostatnich badań wykazano, że dodatek do mieszanki mlecznej 76 mg/100 ml Lf u niemowląt z niedokrwistością, karmionych wcześniej pokarmem matki, po upływie 3 miesięcy normalizuje poziom hemoglobiny, transferryny w osoczu oraz całkowite stężenie Fe (TBIC) w organizmie [27]. Powyższe obserwacje wskazują na nowy obszar zastosowania Lf w profilaktyce klinicznej.

LAKTOFERYNA W ZAKAŻENIU SARS-COV2

Ostatnie badania potwierdzają antywirusowe działanie Lf. Ograniczenie zakażenia SARS-Cov2 związane jest z bezpośrednim działaniem Lf wiążącej i blokującej receptory wirusa, obniżeniem wewnątrzkomórkowej replikacji poprzez indukcję interferonu I oraz pośrednio poprzez stymulację aktywności fagocytarnej makrofagów oraz komórek NK [24]. Ponadto reguluje układ krzepnięcia krwi poprzez aktywację plazminogenu i regulację fibrylizacji. Wykazuje przeciwzapalne i immunoregulacyjne właściwości, obniżając uwalnianie prozapalnych cytokin, moduluje reakcję odpornościową organizmu. Należy podkreślić, że działanie Lf występuje we wczesnej fazie zakażenia poprzez blokowanie cząsteczek wirusa wnikających do wnętrza komórek gospodarza [25]. Sugeruje to konieczność stosowania Lf profilaktycznie. Konieczne są w tym zakresie dalsze badania. Antywirusowe działanie Lf wykazano również w szerokim spektrum zakażeń wywołanych zarówno przez wirusy otoczkowe, jak i bezotoczkowe.

Dokonany przegląd wskazuje na poszerzającą się wiedzę dotyczącą działania i stosowania profilaktycznego i leczniczego laktoferyny. Konieczne są dalsze badania dotyczące optymalnej dawki, czasu trwania podaży Lf oraz zwrócenie uwagi na stosowanie zarówno w badaniach, jak i suplementacji wysokiej jakości stosowanego białka.

1. Berlutti F i wsp. Antiviral properties of lactoferrin – a natural immunity molecule, *Molecules* 2011 Aug 16;16(8):6992-7018. doi: 10.3390/molecules16086992
2. Yin C i wsp. Recent studies on the antimicrobial peptides lactoferricin and lactoferrampin, *Curr Mol Med.* 2014;14(9):1139-54. doi: 10.2174/1566524014666141015151749
3. Puddu P i wsp. Bovine Lf counteracts Toll-like receptor mediated activation signals in antigen presenting cells, *PLoS One.* 2011;6(7):e22504. doi: 10.1371/journal.pone.0022504. Epub 2011 Jul 25
4. Karav S i wsp. Studing lactoferrin N-glycosylation, *Int J Mol Sci* 2017 Apr; 18(4): 870. Published online 2017 Apr 20. doi: 10.3390/ijms18040870
5. Lönnerdal B, Bioactive proteins in breast milk, *J Paediatr Child Health* 2013 Mar;49 Suppl 1:1-7. doi: 10.1111/jpc.12104
6. Kell DB i wsp. The biology of lactoferrin an Iron bindingprotein the can help defend against viruses and bacteria. *Front Immunol* 2020 May 28;11:1221. doi: 10.3389/fimmu.2020.01221. eCollection 2020
7. Drago-Serrano ME i wsp. Lactoferrin-lipopolysaccharide (LPS) binding as key to antibacterial and antiendotoxic effects, *Int Immunopharmacol* 2012 Jan;12(1):1-9. doi: 10.1016/j.intimp.2011.11.002. Epub 2011 Nov 18
8. Latorre D i wsp. Reciprocal Interactions between Lactoferrin and Bacterial Endotoxins and Their Role in the Regulation of the Immune Response, *Toxins (Basel)* 2010 Jan; 2(1): 54–68. Published online 2010 Jan 8. doi: 10.3390/toxins2010054
9. Hu P i wsp. Lactoferrin attenuates lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses and barrier impairment through the modulation of NF-κB/MAPK/Nrf2 pathways in IPEC-J2 cells, *Food Funct* 2020,11, 8516-8526. doi: 101039.2020
10. Li Ch i wsp. Lactoferrin Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Infantile Intestinal Immune Barrier Damage by Regulating an ELAVL1-Related Signaling Pathway, *Int J Mol Sci* 2022 Nov; 23(22): 13719. Published online 2022 Nov 8. doi: 10.3390/ijms232213719
11. Torow N i wsp. Neonatal mucosal immunology, *Mucosal Immunol* 2017 Jan;10(1):5-17. doi: 10.1038/mi.2016.81. Epub 2016 Sep 21.
12. Wu H i wsp. Effect of Food Endotoxin on Infant Health, *Toxins (Basel)* 2021 May; 13(5): 298. Published online 2021 Apr 22. doi: 10.3390/toxins13050298
13. Xue L i wsp. Probiotics may delay the progression of nonalcoholic fatty liver disease by restoring the gut microbiota structure and improving intestinal endotoxemia, *Sci Rep* 2017 Mar 28;7:45176. doi: 10.1038/srep45176
14. Valenti P, Autonini G. Lactoferrin: an important host defence against microbial and viral attack, *Cell Mol Life Sci* 2005 Nov;62(22):2576-87. doi: 10.1007/s00018-005-5372-0
15. Townsed S i wsp. The presence of endotoxin in powdered infant formula milk and the influence of endotoxin and Enterobacter sakazakii on bacterial translocation in the infant rat. *Food Microbiol* 2007 Feb;24(1):67-74. doi: 10.1016/j.fm.2006.03.009. Epub 2006 Jun 12
16. FDA's CFR code of Federal Regulations Title 21 US Food and Drug Administration Washington DCUSA 2018.
17. Wu H i wsp. Effect of Food Endotoxin on Infant Health, *Toxins (Basel)*. 2021 May; 13(5): 298. Published online 2021 Apr 22. doi: 10.3390/toxins13050298
18. Lönnerdal B, Biological effects of novel bovine milk fractions, *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program* 2011;67:41-54. doi: 10.1159/000325574. Epub 2011 Feb 16
19. Rosa L i wsp. Physico-chemical properties influence the fuction and effiacy of commercial bovine lactoferrins. w. XIII International conference on lactoferrin structure, function and applications, *Abstract Book* 2017.19.
20. Wakabayashi H i wsp., Quality control of commercial bovine lactoferrin, *Biometals.* 2018 Jun;31(3):313-319. doi: 10.1007/s10534-018-0098-2. Epub 2018 Apr 4
21. Pammi M, Suresh G, Enteral lactoferrin supplementation for prevention of sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants., *Cochrane Database Syst Rev* 2017 Jun 28;6(6):CD007137. doi: 10.1002/14651858.CD007137.pub5
22. Manzoni P i wsp. Is Lactoferrin More Effective in Reducing Late-Onset Sepsis in Preterm Neonates Fed Formula Than in Those Receiving Mother's Own Milk? Secondary Analyses of Two Multicenter Randomized Controlled Trials. *Am J Perinatol* 2019 Jul;36(S 02):120-125. doi: 10.1055/s-0039-1691807. Epub 2019 Jun 25
23. Pammi M i wsp. Evidence from systematic reviews of randomized trials on enteral lactoferrin supplementation in preterm neonates. *Biochem Cell Biol* 2021 Feb;99(1):20-24. doi: 10.1139/bcb-2020-0136. Epub 2020 Jul 28
24. Berhon BS i wsp. Effect of Lactoferrin Supplementation on Inflammation, Immune Function, and Prevention of Respiratory Tract Infections in Humans: A Systematic Review and Meta-analysis, *Adv Nutr* 2022 Oct 2;13(5):1799-1819. doi: 10.1093/advances/nmac047
25. Anderson GJ, Frezer DM, Current understanding of iron homeostasis, *Am J Clin Nutr* 2017 Dec;106(Suppl 6):1559-1566. doi: 10.3945/ajcn.117.155804. Epub 2017 Oct 25
26. Fernandez-Menendez S i wsp. Iron bioavailability from supplemented formula milk: effect of lactoferrin addition., *Eur J Nutr* 2017 Dec;56(8):2611-2620. doi: 10.1007/s00394-016-1325-7. Epub 2016 Oct 18
27. Chien K i wsp., Dose Effect of Bovine Lactoferrin Fortification on Iron Metabolism of Anemic Infants, *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2020;66(1):24-31. doi: 10.3177/jnsv.66.24
28. Campione E i wsp., Lactoferrin as Protective Natural Barrier of Respiratory and Intestinal Mucosa against Coronavirus Infection and Inflammation, *Int J Mol Sci* 2020 Jul 11;21(14):4903. doi: 10.3390/ijms21144903

data przyjęcia pracy - 12.12.2023

data akceptacji - 02.01.2024