

DOI 10.52368/2078-0109-2023-59-2-93-98
УДК 636.39:602.6:637.112.7

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРВАЛЬНОГО ДОЕНИЯ КОЗ-ПРОДУЦЕНТОВ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И СОДЕРЖАНИЕ ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА В МОЛОКЕ ЖИВОТНЫХ

Будевич А.И. ORCID ID 0009-0007-6688-1081, Петрушко Е.В. ORCID ID 0009-0004-6096-3391, Ермолицкий В.Н. ORCID ID 0009-0006-1102-4018, Пайтерова О.В. ORCID ID 0009-0006-3972-3777, Свирская А.А. ORCID ID 0009-0003-0709-1101

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь

*Установлено, что применение интервального доения коз-производителей биоаналога лактоферрина человека приводит к достоверным изменениям в физико-химических и биохимических показателях молока животных: повышению жира на 32% ($P < 0,001$), общего белка – на 12% ($P < 0,001$), СОМО – на 9% ($P < 0,001$), плотности – на 18% ($P < 0,001$), содержанию соматических клеток – на 81% ($P < 0,001$), концентрации рчЛФ – на 15,2-66,0% ($P < 0,001$) по сравнению с первоначальным периодом. Интервальное доение коз-производителей рекомбинантного белка способствует активации выработки лактоферрина человека, что может быть использовано для регуляции производства рчЛФ при мониторинге состояния молочной железы трансгенных животных. **Ключевые слова:** интервальное доение, молоко, рекомбинантный человеческий лактоферрин, соматические клетки, трансгенные козы-производители.*

INFLUENCE OF INTERVAL MILKING OF PRODUCING GOATS ON PHYSICOCHEMICAL INDICATORS AND CONTENT OF HUMAN LACTOFERRIN IN ANIMAL MILK

Budevich A.I., Petrushko E.V., Ermolitsky V.N., Payterova O.V., Svirskaya A.A.

RUE "Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding", Zhodino, Republic of Belarus

*It has been established that the use of the interval milking of goats producing biosimilar human lactoferrin leads to significant changes in the physicochemical and biochemical indicators of animal milk, namely, to an increase in fat content by 32% ($P < 0.001$), total protein content – by 12% ($P < 0.001$), MSNF – by 9% ($P < 0.001$), density – by 18% ($P < 0.001$), somatic cell content – by 81% ($P < 0.001$), rhLF concentration – by 15.2-66.0% ($P < 0.001$ 0.001) compared to the initial period. Interval milking of goats producing recombinant protein promotes the activation of human lactoferrin production, which can be used to regulate rhLF production in monitoring the mammary gland status of transgenic animals. **Keywords:** interval milking, milk, recombinant human lactoferrin, somatic cells, transgenic producing goats.*

Введение. Лактоферрин (ЛФ) представляет собой металлсвязывающий гликопротеин молекулярной массой 80 кДа, принадлежащий к семейству трансферринов [1].

Установлено [2], что основными двумя источниками лактоферрина (ЛФ) в организме млекопитающих являются органные и тканевые эпителиальные клетки, которые синтезируют и выделяют данный белок в молоко, слезы, слюну, носовую жидкость, бронхиальный и кишечный секрет, синовиальную и спинномозговую жидкость, а также гранулы нейтрофилов, синтезирующие гликопротеин в значительных количествах, из вторичной форм которых ЛФ высвобождается и при необходимости эффективно удаляется из кровотока печенью. Исследования на крысах показали, что около 95% внутривенно введенного ЛФ (0,25 мг/кг от массы тела) захватывается печенью в течение 5 минут [3].

Лактоферрин модулирует состав и баланс пробиотиков, которые, в свою очередь, участвуют в процессах формирования и поддержания иммунитета через слизистую оболочку кишечника. ЛФ участвует во многих физиологических функциях организма, включая регулирование всасывания железа и иммунных реакций, поддержание баланса антиоксидантов, а также проявляет антимикробную, противовирусную и противовоспалительную активность [4].

Показано [2], что концентрация ЛФ в молоке лактирующих женщин и животных значительно различается. Так, в женском молоке отмечено самое высокое содержание белка (1-6 мг/мл), в молоке мышей – умеренный его уровень (1-2 мг/мл), а в молоке жвачных животных – самая низкая концентрация ЛФ (0,01-0,1 мг/мл) относительно двух первых позиций, при этом в молоке крольчих и крыс лактоферрин отсутствует. Во время приостановки или прекращения лактации в молочной железе человека содержание ЛФ увеличивается до 50 мг/мл, а у крупного рогатого скота – до 20-100 мг/мл [5]. Причем в этот же период концентрация белка в слюне и слезах указанных выше видов млекопитающих составляла около 30 и 2 мг/мл соответственно [5, 6].

По мнению Nuijens J.H. [2], многофункциональность в биологических свойствах чЛФ – основа для его применения в продуктах питания и лекарственных средствах для человека и животных, которые могут быть представлены в качестве профилактических и лечебных препаратов для терапии местных или системных инфекций и хронических воспалений, а также могут быть предназначены для людей с воспалительными заболеваниями кишечника, больных, получающих высокодозную химиотерапию, для пациентов с аллергической астмой. Противомикробное, противовоспалительное и иммуномодулирующее действие чЛФ способно вызывать рост клеток кишечника, при этом его пробиотическая активность за счет стимулирования *Bifidobacterium*, а также за счет влияния белка на усвояемость железа может оказывать благоприятный эффект на людей с указанными выше проблемами [2, 7].

В работах некоторых авторов [8] сообщается о том, что при использовании человеческого и коровьего (кЛФ) лактоферринов, полученных после фракционирования молока, в качестве компонента лекарственных средств последний может быть иммуногенен для человека и вызывать аллергические реакции. Более того, при пероральном применении кЛФ гораздо более восприимчив, чем чЛФ, к протеолизу пищеварительными протеазами, такими как трипсин, что может снижать его общее терапевтическое действие при доставке в воспаленные участки желудочно-кишечного тракта. Вместе с тем, использование женского молока для получения лактоферрина сильно ограничено ввиду нехватки сырья и в этой связи существующей острой необходимости создания банков для хранения молока и его прямого использования для кормления новорожденных, при этом имеют место этические вопросы, возникающие при организации сбора сырья, а также нужен постоянный контроль наличия болезней, передающихся от человека к человеку. В этой связи были предложены различные биологические системы по созданию крупномасштабного производства функционального рекомбинантного чЛФ (рчЛФ), в их числе клетки млекопитающих, грибы, дрожжи, трансгенный рис, а также козы-продуценты рчЛФ, показавшие свою эффективность при промышленных условиях эксплуатации стада, устойчиво передающие встроенный в геном экспрессионный вектор в ряду поколений (F₇-F₈), со средней концентрацией «белка интереса» в молоке 1,5-3,0 г/л [9, 10].

Регуляция синтеза лактоферрина в организме животных, продуцирующих данный гликопротеин с молоком, является одним из направлений исследований, направленных на повышение количества вырабатываемого молочной железой ЛФ и, соответственно, на снижение издержек при его выделении. Так, работами ряда исследователей [10, 11] установлено, что управление доением может быть способом увеличения концентрации ЛФ в молоке коров средней и поздней лактации. Для этого был модифицирован ежедневный двукратный процесс получения сырья до одноразового доения животных на 2-й, 4-й и 7-й день (для коров средней лактации) и на 2-й и 4-й день (для животных поздней лактации). По окончании опыта полноценная лактация у коров была возобновлена в течение 4 дней, и результаты эксперимента показали, что концентрация лактоферрина во всех группах животных достигала значения ~1 г/л и была выше исходного показателя почти в 100 раз (P<0,01). При этом у коров на стадии поздней лактации повышенный уровень ЛФ сохранялся еще на протяжении 4 дней после окончания эксперимента. Более того, молочная железа коров оказалась способной быстро возвращаться в естественное лактирующее состояние после приостановления доения с отсутствием признаков мастита, и, хотя значение показателя соматических клеток (SCC) было повышено, воспалительного процесса в молочной железе выявлено не было.

Основная гипотеза исследований состояла в том, что сокращение кратности доения коз-продуцентов более чем на 24 часа повысит концентрацию рчЛФ в молоке и не окажет отрицательного воздействия на молочную железу животных.

Целью исследований явилось изучение влияния интервального доения коз-продуцентов лактоферрина человека на физико-химические показатели сырья и концентрацию рекомбинантного белка в молоке животных.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились на Биотехнологическом научно-экспериментальном производстве по трансгенезу животных РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству» в зимне-весенний период года.

Объектом исследований являлось молоко, полученное от здоровых коз-продуцентов (n=10) лактоферрина человека зааненской породы 2-5 лактации живой массой 45-50 кг.

Продолжительность эксперимента составляла 30 дней, включающего три 10-дневных периода (рисунок 1).

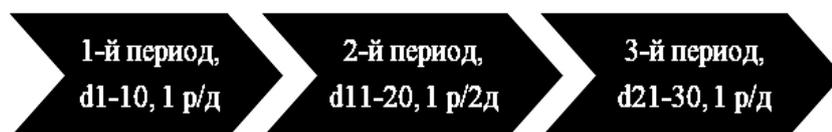


Рисунок 1 - Схема доения коз-продуцентов

В течение первых 10 дней доение животных осуществлялось с использованием общепринятого в условиях фермы однократного режима (1 р/д; утро 11.00). В течение последующих 10 дней козы-производители подвергались доению с интервалом 45 часов (1р/2д; утро 8.00), после чего животные возвращались к обычному режиму получения молока (1 р/д; утро 11.00).

Для доения производителей использовался индивидуальный передвижной доильный аппарат, при этом учитывалась продуктивность каждого животного в течение всего экспериментального периода. Вымя животного до и после получения молока обрабатывалось в соответствии с гигиеническими требованиями.

Полученное молоко фильтровалось, тщательно перемешивалось, после чего проводился отбор образцов: 1,5 мл – для определения концентрации лактоферрина, 200-250 мл – на проведение физико-химических исследований.

Образцы размещались в холодильной камере на срок не менее двух часов для охлаждения до температуры $4\pm 2^\circ\text{C}$. Пробы, предназначенные для определения содержания концентрации рчЛФ, замораживались и хранились при -18°C .

Перед началом определения физико-химических показателей с целью равномерного распределения жировых шариков и удаления излишков газов проводилась пробоподготовка образцов молока путем их подогрева в водяной бане BWB-30M до $40-50^\circ\text{C}$, тщательного перемешивания и охлаждения до 20°C .

Всего в эксперименте было отобрано 250 образцов молока, которые исследовались по физико-химическим показателям: жиру (%), белку (%), СОМО (%), плотности ($^\circ\text{A}$), лактозе (%) с помощью прибора «Экомилк» (Болгария); по содержанию соматических клеток (SCC, тыс./см³) на счетчике «DCC» (Delaval, Швеция); по количественному содержанию рекомбинантного лактоферрина человека методом ИФА с использованием микропланшетного ридера «Sunrise» (Tecan, Австрия), при этом измерение для каждого образца было выполнено в двух повторах. Количество выдоенного молока определялось с помощью мерного цилиндра.

На протяжении всего эксперимента осуществлялся ежедневный контроль состояния здоровья молочной железы животных.

Содержание и рацион кормления животных на протяжении опыта не менялись.

Полученные данные были обработаны с помощью приложения Microsoft Office Excel.

Результаты исследований. Данные результатов эксперимента по молочной продуктивности, физико-химическому составу молока коз-производителей рчЛФ во взаимосвязи с содержанием рекомбинантного лактоферрина человека и значением показателя соматических клеток при общепринятом доении животных 1 р/д по сравнению с получением от них молока 1 р/2дня в зимне-весенний период года представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Молочная продуктивность и характеристика сырья коз-производителей рчЛФ при интервальном доении животных в зимне-весенний период года

Период доения	Показатели продуктивности и качества молока трансгенных коз							
	удой, мл	жир, %	белок, %	СОМО, %	плотность, $^\circ\text{A}$	лактоза, %	SCC, тыс./см ³	лактоферрин, г/л
d1-10, доение 1 р/д	781,81± 35,96	3,04± 0,14	3,49± 0,03	9,8± 0,05	30,3± 1,52	5,52± 0,05	239,4± 14,73	3,2± 0,07
d11-20, 1 р/2дня	1422,7± 67,54***	4,47± 0,12***	3,98± 0,06***	10,73± 0,12***	37,01± 0,76***	5,61± 0,13	1245,27± 56,55***	5,84± 0,12***
d21-30, доение 1 р/д	702,2± 31,8	3,60± 0,2	3,66± 0,04***	10,09± 0,04***	34,1± 0,41***	5,58± 0,06	755,23± 30,54***	4,11± 0,14***

Примечания: * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$ рассчитаны для показателей режима доения 1 р/2дня и 3-го периода (1 р/д) относительно показателей 1-го периода (парные сравнения, t-критерий Стьюдента). Данные представлены в виде среднего значения±стандартная ошибка среднего (SEM).

В период d1-10 при доении животных-производителей рчЛФ 1 р/д средняя продуктивность коз находилась на уровне 781,81 мл (наибольшее значение – 1050 мл, наименьшее – 550 мл, медиана – 750 мл). Интервальное получение молока через 45 часов (d11-20, доение 1 р/2дня) позволило почти двукратно повысить средний удой (1422,7 мл), однако при расчете на 10-дневный период продуктивность животных снизилась на 9% по сравнению с 1-м периодом и составила 711,35 мл в день. Продукция молока в 3-й период d21-30 (доение 1 р/д) составила в среднем 702,2 мл (наибольшее значение – 900 мл, наименьшее – 400 мл, медиана – 700 мл), что свидетельствовало о неполном восстановлении продуктивности животных по отношению к 1-му периоду d1-10, которая была ниже на 10%.

Таким образом, наблюдалось снижение удоя животных в диапазоне 9-10% при интервальном получении молока во 2-й и 3-й периоды опыта по сравнению с 1-м (таблица 1, рисунок 2).

Показатели физико-химического состава молока при доении животных 1 р/2дня значительно превосходили таковые 1-го периода эксперимента (таблица 1). Так, содержание жира было выше на 32% (4,47 против 3,04%, $P < 0,001$), общего белка – на 12% (3,98 против 3,49%, $P < 0,001$), СОМО – на 9% (10,73 против 9,8%, $P < 0,001$), плотности – на 18% (37,01 против 30,3А, $P < 0,001$), лактозы – на 2% (5,61 против 5,52%).

Исследование характеристик молока в течение 10 дней периода d21-30 (таблица 1) показало, что значения показателей физико-химического состава сырья также преобладали по сравнению с периодом d1-10. Так, содержание жира было выше на 16% (3,6 против 3,04%, $P < 0,05$), белка – на 5% (3,66 против 3,49%, $P < 0,001$), СОМО – на 3% (10,09 против 9,8%, $P < 0,001$), плотности – на 11% (34,1 против 30,3А, $P < 0,001$), лактозы – на 1% (5,58 против 5,52%).

Представленные данные свидетельствуют о том, что более редкое доение животных приводит к накоплению молока в молочной железе коз-производителей рчЛФ, что, в свою очередь, оказывает существенное влияние на его физико-химический состав. При этом показатель содержания лактозы в течение эксперимента был наименее вариабелен по сравнению с другими компонентами молока. Наиболее вероятным объяснением этому является существенная роль лактозы в поддержании осмотического равновесия между кровотоком и альвеолярными клетками в молочной железе в течение периода синтеза и секреции молока в альвеолах, расположенных вокруг молочных протоков вымени [12]. При этом лактоза выполняет важную роль в компенсаторном механизме, регулирующем состав молока в условиях производства молочной железой сверхпродукции рекомбинантного белка (~90-120% от уровня нативного козьего лактоферрина).

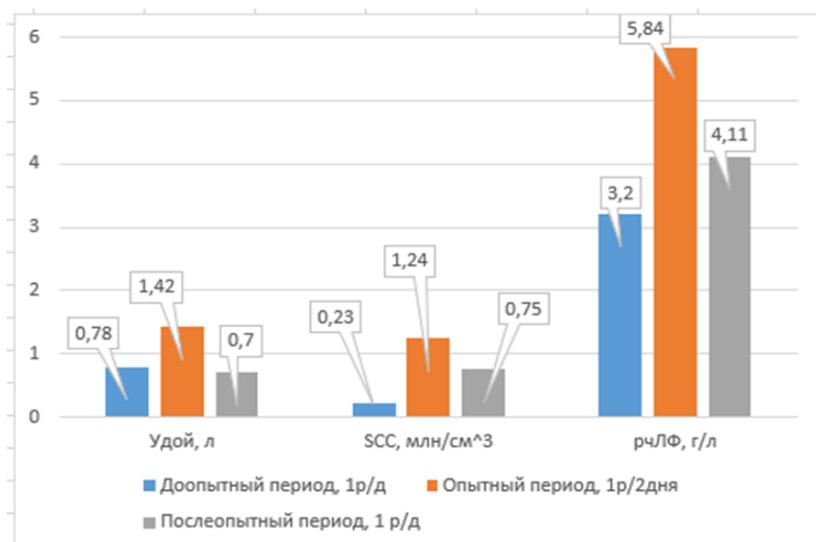


Рисунок 2 – Показатели удоя, соматических клеток и рекомбинантного лактоферрина человека в течение проведения эксперимента

Значения показателя содержания соматических клеток (SCC) в молоке трансгенных коз в течение проведения эксперимента представлены в Таблице 1 и на Рисунке 2. Так, в 1-й период опыта показатель SCC был низким и составил 239,4 тыс/см³ (диапазон – 117-310 тыс/см³). Интервальное доение животных d11-20 привело к резкому повышению соматических клеток в молоке – средний показатель SCC оказался на уровне 1245,27 тыс/см³ (диапазон – 844-1868 тыс/см³, медианна – 1040 тыс/см³, $P < 0,001$), что в 5,2 раза, или на 81%, было выше по сравнению с периодом d1-10.

При переводе животных на режим доения 1 р/д (d21-30) было отмечено снижение количества соматических клеток на 39% (до 755,23 тыс/см³) по сравнению с периодом d11-20. При этом необходимо отметить, что показатель SCC после окончания 3-го периода был выше на 68% ($P < 0,001$) по сравнению с 1-м, т.е. восстановления первоначального уровня наличия соматических клеток в сырье в течение 10 дней после изменения режима доения на ежедневный не произошло.

Данные по содержанию рекомбинантного гликопротеина в молоке коз-производителей, представленные в таблице 1 и на рисунке 2, свидетельствуют о том, что концентрация рчЛФ была различна в каждом отрезке эксперимента. Так, существенные количественные изменения содержания белка были отмечены в период применения интервального доения животных (средняя концентрация – 5,84 г/л, диапазон значений - 5,3-6,6 г/л, медиана – 5,8 г/л), при котором концентрация рчЛФ в молоке достоверно ($P < 0,001$) увеличилась на 45%, или в 1,8 раза (5,84 против 3,2 г/л), по сравнению с

периодом d1-10. В период d21-30 содержание рекомбинантного белка находилось на достаточно высоком уровне – 4,11 г/л (диапазон значений – 3,6-6,3 г/л, медианна – 3,9 г/л), но снизилось на 30% по сравнению с вышеуказанным периодом. Вместе с тем использование интервального доения животных позволило повысить уровень «белка интереса» на 22% ($P<0,001$), или в 1,3 раза, по сравнению с периодом d1-10 в целом по опыту.

В таблице 2 приведен прогнозный расчет увеличения количественного показателя рекомбинантного лактоферрина человека в молоке коз-продуцентов при использовании интервального доения животных.

Таблица 2 – Прогнозный расчет содержания рчЛФ в молоке коз-продуцентов при использовании интервального доения животных

Период доения	Средний удой, л	Содержание рчЛФ в молоке		Прогнозный расчет количества рчЛФ в молоке за период доения, г			*Увеличение содержания рчЛФ в молоке, %
		в среднем, г/л	в расчете на удой, г	за 10 дней доения	за 5 дней доения	за 10 дней доения	
d1-10, доение 1 р/д	0,782	3,2±0,07	2,5	25,0	-	-	-
d11-20, 1 р/2дня	1,423	5,84±0,12	8,3	-	41,5	-	66,0
d21-30, доение 1 р/д	0,702	4,11±0,14	2,88	-	-	28,8	15,2

Примечание. рассчитано по отношению к периоду доения d1-10.*

Из данных таблицы видно, что увеличение концентрации рекомбинантного белка за весь эксперимент при доении животных 1р/2дня и 1 р/д составило 66,0 и 15,2%, соответственно, по сравнению с периодом d1-10, тем самым продемонстрирована возможность управления синтезом рчЛФ при изменении режима получения молока от животных-продуцентов.

Следует отметить, что в период доения коз 1р/2 дня вместе с повышением количества белка в молоке продуцентов также происходило и увеличение содержания соматических клеток в сырье, что могло свидетельствовать о развитии воспалительного процесса в молочной железе животных. Однако постоянный мониторинг коз на наличие указанной патологии в течение эксперимента показал ее отсутствие у продуцентов.

С одной стороны, данный факт может объясняться сверхпродукцией лактоферрина, который сдерживает развитие воспаления, с другой стороны, по мнению Welty F.K. et all. [13], может происходить дополнительный выброс ЛФ другими эпителиальными клетками, а также высвобождение белка из вторичных гранул нейтрофильных полиморфноядерных лейкоцитов, что препятствует образованию очагов различных инфекций. Наконец, говоря о сокращении доения животных как об инициации естественного процесса для перевода их в запуск, Stelwagen K. [12] считает данный подход допустимым при соответствующем контроле состояния здоровья животных. В связи с тем, что ЛФ стимулирует образование продуктов воспалительных реакций – цитокинов, хемокинов и лейкоцитов, в результате чего происходит увеличение общего количества соматических клеток в молоке, что в свою очередь может указывать на начало негативных процессов в вымени животных, мониторинг состояния их молочной железы крайне необходим [14].

Вместе с тем, некоторые авторы [15] сообщают о том, что козы обладают большой способностью адаптироваться к возможным сложным условиям изменяющейся производственной среды, при этом сокращение и затем возобновление доения позволяет животным данного вида восстановить первоначальный уровень своей продуктивности и сохранить устойчивость к действию различного рода повреждающих факторов.

Закключение. Установлено, что применение интервального доения коз-продуцентов биоаналога лактоферрина человека приводит к достоверным изменениям в физико-химических и биохимических показателях молока животных. Показатели физико-химического состава молока при доении животных 1 р/2дня значительно превосходили таковые при доении животных 1 р/день. Жир был выше на 32% ($P<0,001$), белок – на 12% ($P<0,001$), СОМО – на 9% ($P<0,001$), плотность – на 18% ($P<0,001$), лактоза – на 2% (5,52%). Доение животных 1 р/2дня привело к резкому повышению соматических клеток в молоке – средний показатель SCC был на уровне 1245,27 тыс/см³ ($P<0,001$), что в 5,2 раза, или на 81%, было выше по сравнению с периодом d1-10. При интервальном доении концентрация рчЛФ на 15,2-66,0% ($P<0,001$) была выше по сравнению с первоначальным периодом. Интервальное доение коз-продуцентов рекомбинантного белка способствует активации выработки лактоферрина человека, что может быть использовано для регуляции производства рчЛФ при мо-

ниторинге состояния молочной железы трансгенных животных.

Conclusion. It has been established that the use of the interval milking of goats producing biosimilar human lactoferrin leads to significant changes in the physicochemical and biochemical indicators of animal milk. Physicochemical indicators of milk when milking animals once every 2 days were considerably superior to those obtained when milking animals once a day. Fat content was higher by 32% ($P < 0.001$), protein content – by 12% ($P < 0.001$), MSNF – by 9% ($P < 0.001$), density – by 18% ($P < 0.001$), lactose content – by 2% (5.52%). Milking of animals once every 2 days resulted in a dramatic increase of somatic cell content in milk – the average SCC was at the level of 1245.27 thousand/cm³ ($P < 0.001$), which was 5.2 times or 81% higher compared to the period d1-10. During interval milking, the concentration of rhLF was 15.2-66.0% ($P < 0.001$) higher compared to the initial period. The interval milking of goats producing recombinant protein promotes the activation of human lactoferrin production, which can be used to regulate rhLF production in monitoring the mammary gland status of transgenic animals.

Список литературы. 1. Bovine lactoferrin as a Modulator of Neuroendocrine Components of Stress / F. Guzmán-Mejía [et al.] // *Curr. Mol. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 14. – P. 1037–1045. 2. Structure and biological actions of lactoferrin / J.H. Nuijens [et al.] // *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* – 1996. – Vol. 1. – P. 285–295. 3. Lactoferrin uptake by the rat liver. Characterization of the recognition site and effect of selective modification of arginine residues / G. J. Ziere [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1996. – Vol. 267. – P. 11229–11235. 4. Immunomodulatory effects of lactoferrin / T. Siqueiros-Cendón [et al.] // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2014. – Vol. 35. – P. 557–566. 5. Lactoferrin levels in normal human tears / A. Kijlstra [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 1983. – Vol. 67. – P. 199–202. 6. Decreased excretion of antimicrobial proteins and peptides in saliva of patients with oral candidiasis / T. Tanida [et al.] // *J. Oral Pathol. Med.* – 2003. – Vol. 32. – P. 586–594. 7. Molecular cloning and functional expression of a human intestinal lactoferrin receptor / Y. A. Suzuki [et al.] // *Biochemistry.* – 2003. – Vol. 40. – P. 15771–15779. 8. The effect of trypsin and chymotrypsin on the *in vitro* antimicrobial and iron-binding properties of lactoferrin in human milk and bovine colostrum. Unusual resistance of human apolactoferrin to proteolytic digestion / R. D. Brines [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 1983. – Vol. 759. – P. 229–235. 9. Glycosylated and unglycosylated human lactoferrins can both bind iron and have identical affinities towards human lysozyme and bacterial lipopolysaccharide, but differ in their susceptibility towards tryptic proteolysis / P. H. van Berkel [et al.] // *Biochem. J.* – 1995. – Vol. 312. – P. 107–114. 10. Goats producing biosimilar human lactoferrin / D.M. Bogdanovich [et al.] // *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* – 2021. – Vol. 852. – Cm. 12080. 11. Reduced milking frequency increases the concentration of host-defense proteins in milk / K. Stelwagen [et al.] // *Journal of Dairy Science.* – 2011. – Vol. 94. – P. 751. 25. Zaharia, N. Evaluation of milk production of goats populations from North-Eastern Romania / N. Zaharia, C. Pascal, R. Zaharia // *Lucrări științifice. Seria Zootehnie.* – 2011. – Vol. 55. – P. 108–111. 12. Stelwagen, K. Effect of milking frequency on mammary functioning and shape of the lactation curve / K. Stelwagen // *J. Dairy Sci.* – 2001. – Vol. 84. – P. E204–E211. 13. Lactoferrin Concentration During Involution of the Bovine Mammary Gland / F. K. Welty [et al.] // *Journal of Dairy Science.* – 1976. – Vol. 59. – P. 224–231. 14. Small molecule lactoferrin with an inflammatory effect but no apparent antibacterial activity in mastitic mammary gland secretion / K. Y. Komine [et al.] // *J. Vet. Med. Sci.* – 2005. – Vol. 67. – P. 181–193. 15. Silanikove, N. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments / N. Silanikove // *Small Rumin. Res.* – 2000. – Vol. 35. – P. 181–193.

References. 1. Bovine lactoferrin as a Modulator of Neuroendocrine Components of Stress / F. Guzmán-Mejía [et al.] // *Curr. Mol. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 14. – P. 1037–1045. 2. Structure and biological actions of lactoferrin / J.H. Nuijens [et al.] // *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* – 1996. – Vol. 1. – P. 285–295. 3. Lactoferrin uptake by the rat liver. Characterization of the recognition site and effect of selective modification of arginine residues / G. J. Ziere [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1996. – Vol. 267. – P. 11229–11235. 4. Immunomodulatory effects of lactoferrin / T. Siqueiros-Cendón [et al.] // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2014. – Vol. 35. – P. 557–566. 5. Lactoferrin levels in normal human tears / A. Kijlstra [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 1983. – Vol. 67. – P. 199–202. 6. Decreased excretion of antimicrobial proteins and peptides in saliva of patients with oral candidiasis / T. Tanida [et al.] // *J. Oral Pathol. Med.* – 2003. – Vol. 32. – P. 586–594. 7. Molecular cloning and functional expression of a human intestinal lactoferrin receptor / Y. A. Suzuki [et al.] // *Biochemistry.* – 2003. – Vol. 40. – P. 15771–15779. 8. The effect of trypsin and chymotrypsin on the *in vitro* antimicrobial and iron-binding properties of lactoferrin in human milk and bovine colostrum. Unusual resistance of human apolactoferrin to proteolytic digestion / R. D. Brines [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 1983. – Vol. 759. – P. 229–235. 9. Glycosylated and unglycosylated human lactoferrins can both bind iron and have identical affinities towards human lysozyme and bacterial lipopolysaccharide, but differ in their susceptibility towards tryptic proteolysis / P. H. van Berkel [et al.] // *Biochem. J.* – 1995. – Vol. 312. – P. 107–114. 10. Goats producing biosimilar human lactoferrin / D.M. Bogdanovich [et al.] // *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* – 2021. – Vol. 852. – Cm. 12080. 11. Reduced milking frequency increases the concentration of host-defense proteins in milk / K. Stelwagen [et al.] // *Journal of Dairy Science.* – 2011. – Vol. 94. – P. 751. 25. Zaharia, N. Evaluation of milk production of goats populations from North-Eastern Romania / N. Zaharia, C. Pascal, R. Zaharia // *Lucrări științifice. Seria Zootehnie.* – 2011. – Vol. 55. – P. 108–111. 12. Stelwagen, K. Effect of milking frequency on mammary functioning and shape of the lactation curve / K. Stelwagen // *J. Dairy Sci.* – 2001. – Vol. 84. – P. E204–E211. 13. Lactoferrin Concentration During Involution of the Bovine Mammary Gland / F. K. Welty [et al.] // *Journal of Dairy Science.* – 1976. – Vol. 59. – P. 224–231. 14. Small molecule lactoferrin with an inflammatory effect but no apparent antibacterial activity in mastitic mammary gland secretion / K. Y. Komine [et al.] // *J. Vet. Med. Sci.* – 2005. – Vol. 67. – P. 181–193. 15. Silanikove, N. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments / N. Silanikove // *Small Rumin. Res.* – 2000. – Vol. 35. – P. 181–193.

Поступила в редакцию 31.03.2023.