

ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН
(электронный журнал)



2013 * № 4

On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© Коллектив авторов, 2013

УДК 612.017.11

*И.Б. Бродский¹, В.М. Бондаренко², Н.Н. Томашевская³, Е.Р. Садчикова³,
И.Л. Гольдман³*

АНТИМИКРОБНЫЕ, ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ И ПРЕБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛАКТОФЕРРИНА

¹ ЗАО «Партнер», Москва, Россия

² НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

³ Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

В настоящей работе дана сравнительная характеристика лактоферрина человека в сравнении с бычьим лактоферрином, который широко используется в качестве биологически активной добавки к пище, восполняющей дефицит эндогенного лактоферрина, а также в качестве пребиотика, стимулирующего рост бифидобактерий и лактобацилл. Бычий лактоферрин также широко используется при моделировании бактериостатического действия и пребиотического эффекта лактоферрина на лабораторных моделях, однако опубликованные данные свидетельствуют о существенных различиях между бычьим и человеческим белками, что требует дальнейшей работы в области исследования пребиотических свойств именно человеческого лактоферрина.

Ключевые слова: лактоферрин человека, бычий лактоферрин, бифидобактерии, лактобациллы, антибиотикоустойчивость, пребиотический эффект, симбиотические комплексы.

*I.B. Brodsky¹, V.M. Bondarenko², N.N. Tomashevskaya³, E.R. Sadchikova³,
I.L. Goldman³*

ANTIMICROBIAL, IMMUNOMODULATORY AND PREBIOTIC PROPERTIES OF LACTOFERRIN

¹ Partner Company, Moscow, Russia

² Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

³ Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

This article summarizes comparative characteristics of human lactoferrin in comparison with bovine lactoferrin, which is widely used as biologically active food supplement to overcome the lack of endogenous lactoferrin and as prebiotic that stimulates the growth of bifidobacteria and lactobacilli. Bovine lactoferrin is also widely used in modeling bacteriostatic and prebiotic effect of lactoferrin in laboratory models, but recently published data show significant differences between the bovine and human proteins that require further work in the study of prebiotic properties of human lactoferrin.

Key words: human lactoferrin bovine lactoferrin, bifidobacteria, lactobacillus, antibiotic resistance bacteria, prebiotic effect, symbiotic complexes.

Введение.

В последние годы отмечено широкое распространение полиантибиотикоустойчивых возбудителей заболеваний инфекционного генез, получившее название эпидемии резистентности. По данным ВОЗ уже более 60% возбу-

телей устойчивы к основным антибиотикам, а через 10-20 лет практически все приобретут резистентность к антимикробным препаратам. В связи с указанным применение антибиотиков уже в наши дни часто мало эффективно при лечении эндогенной гнойно-воспалительной инфекции, протекающей на фоне нарушенных микробиологических и иммунных состояний организма больного [1]. Альтернативой является назначение для терапии различных пробиотических препаратов, подавляющих патогенные и условно патогенные микроорганизмы. Пробиотические бактерии способны также нормализовать нарушенный микробиоценоз кишечного, респираторного и урогенитального трактов. Наше внимание привлекли работы, касающиеся биохимических и биологических свойств лактоферринов различного происхождения, которые являются ключевыми белками естественного иммунитета, обеспечивающими противобактериальную, противовирусную и противогрибковую защиту макроорганизма.

Лактоферрин и его физико-химические свойства. Лактоферрин (ЛФ) – железосвязывающий гликопротеин, входящий в семейство белков трансферринов [25]. Он состоит из приблизительно семисот аминокислотных остатков [24]. Железонасыщенная форма ЛФ имеет молекулярную массу около 80 кДа и представляет собой полипептидную цепь, свернутую в два глобулярных гомологичных фрагмента N и C, соединенных α -спиралью. Каждый из этих фрагментов, в свою очередь, состоит из двух доменов: N1, N2 и C1, C2, соответственно, формирующих карман, где ион железа (Fe^{3+}) связан с шестью лигандами: два остатка Tyr, один His, один Asp и две жесткие связи с (би)карбонатными ионами [31]. В отличие от трансферрина ЛФ связывается с железом при очень низких pH (3 и ниже), в то время как первый утрачивает эту способность при pH ниже 5,5 из-за присутствия в нем дополнительной водородной связи между лизиновыми остатками. В ЛФ белковые фрагменты тесно примыкают друг к другу, что делает связь с ионом металла более прочной. Железонасыщенная форма ЛФ – более «открытая», поэтому она подвержена действию протеаз. Нативная форма белка ЛФ, выделяемого из женского молока, содержит 10-25 % железа. На каждом фрагменте этого белка имеется сайт гликозилирования, который обеспечивает относительную устойчивость ЛФ к протеолитическому воздействию. ЛФ характеризуется очень высокой изоэлектрической точкой – 8,7, что определяет возможность

его ассоциации с другими молекулами [4, 12, 15]. Установлено, что N-конец ЛФ имеет высокий положительный заряд благодаря большому скоплению в этом сегменте положительно заряженных остатков аргинина [33], обеспечивающих возможность его связи с церулоплазмином [35], остеопонтином [37] и многими другими анионными молекулами, включая гепарин, мукополисахариды, ДНК и молекулы клеточной поверхности [23].

Показано, что ЛФ может связывать не только железо, но также и медь, хром, магний и кобальт. Однако количество молекул, связанных с этими металлами, намного меньше по сравнению с теми, что связаны с железом, и эти связи гораздо слабее [3]. ЛФ устойчив к протеолитическому воздействию. Трипсин и химотрипсин почти не разлагают этот белок, особенно в железонасыщенной форме. Однако, ЛФ подвержен действию пепсина, в результате чего протеолиз этого белка приводит к образованию больших фрагментов, которые, так же как и небольшие количества неизмененного ЛФ, можно обнаружить в стуле младенцев, находящихся на грудном вскармливании [7]. Экспериментально показано, что бычий ЛФ (ЛФб), пройдя через ЖКТ у взрослых людей, в больших количествах сохранялся неизменным, в то время как рекомбинантный ЛФ человека переваривался полностью [32].

При воздействии на ЛФ пепсина образуются фрагменты, называемые лактоферрицинами (ЛФ-цины). ЛФ-цины представляет собой небольшие катионные антимикробные пептиды, состоящие из 49 N-концевых аминокислот. Полагают, что ЛФ-цины крупного рогатого скота могут проявлять большую антимикробную активность, чем ЛФ-цины человека, поскольку они образуют в растворе β -складчатую структуру с несколькими гидрофобными остатками на одной стороне. При этом положительно заряженные остатки обеспечивают контакт с целевой клеткой, гидрофобные остатки взаимодействуют с ее мембраной. ЛФ-цины человека образует извитую структуру без упорядоченного расположения гидрофобных остатков, возможно, поэтому они проявляют более слабую антимикробную активность [34]. Недавно был обнаружен другой катионный фрагмент ЛФ, (лактоферрампин), проявляющий даже более выраженные антибактериальные и антифунгицидные свойства, чем нативный ЛФ.

Биологическая активность лактоферрина. Наибольшее количество ЛФ обнаруживается в женском грудном молоке, до 5 г/л. Это ключевой белок

естественного иммунитета, который обеспечивает противобактериальную, противовирусную и противогрибковую защиту новорожденному ребенку до момента становления у него собственной эффективно функционирующей иммунной системы. Известно, что в организме человека ЛФ взаимодействует со специфическими клеточными рецепторами, локализованными на мембранах эпителиальных и иммунных клеток [2, 36]. Разнообразие типов клеточных рецепторов, которые специфически связываются с ЛФ человека, а также то, что для этих рецепторов известны и другие, не специфические лиганды, затрудняют дифференцирование специфической активности, которую проявляет собственно молекула ЛФ человека. Вместе с тем, при рассмотрении бактерицидного действия ЛФ различного происхождения следует разделять оценку эффективности их действия в условиях экспериментов, проводимых *in vitro* и в ситуации, складывающейся после попадания ЛФ в организм человека, где для него эволюционно сформировались специфические рецепторы. Показано, что в процессе взаимодействия с клетками ЛФ вызывает стимуляцию митогенактивирующей протеинкиназы (MAP система). Проникая в клеточное ядро ЛФ активирует нуклеарный транскрипционный фактор NF- κ B [2]. Использованием мышей, нокаутных по гену ЛФ, позволило установить, что этот белок практически не используется для транспорта железа в организме новорожденных, более того, отсутствие ЛФ приводило к незначительному увеличению содержания железа в организме. Эти данные позволяют считать, что ЛФ важен не столько для процессов метаболического переноса железа, сколько для связывания избытка его ионов.

Роль ЛФ в защитных реакциях организма против инфекций. Преимущественная локализация ЛФ в выделениях секреторных клеток определенно указывает на то, что основная функция этой молекулы заключается в защите входных ворот для инфекции, проникающей извне. В дальнейшем было установлено, что ЛФ нейтрофилов, эффективно участвует в защите организма от кишечных инфекций. Антимикробные свойства ЛФ хорошо изучены в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Показано, что широкий спектр антимикробной активности ЛФ определяется несколькими молекулярными механизмами. Одна из первых антибактериальных активностей, которая была экспериментально продемонстрирована для молекулы ЛФ – это его бактериостатическая активность. Высокая аффинность ЛФ к железу, а также то,

что он синтезируется и секретируется преимущественно в свободной от металла форме (апоформе), приводят к активному связыванию этим белком свободных ионов железа из окружающей среды, что замедляет рост микроорганизмов. В дальнейшем было установлено, что ЛФ обладает и прямой бактерицидной активностью, независимо от его способности связывать железо. При этом данное свойство ЛФ проявляется и в отношении антибиотикостойчивых патогенов [18, 11]. В модельных экспериментах *in vitro* показано, что бактерицидная активность ЛФ определяется его способностью связываться непосредственно с внешней мембраной грамотрицательных бактерий, что ведет к быстрому освобождению бактериального ЛПС и последующему разрушению мембраны, приводящему к гибели микроорганизма [10]. Было высказано предположение, что именно положительно заряженный концевой домен молекулы ЛФ отвечает за бактерицидную активность этого белка. Этот домен, названный в дальнейшем ЛФ-цин, был выделен из нативного белка и, при сравнительном анализе с интактным ЛФ, продемонстрировал более высокую активность против целого ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также вирусов, патогенных грибов и простейших. Однако пока остается не выясненным, как ЛФ-цин может проявлять свои свойства в составе нативного полипептида ЛФ, и как он отщепляется от белка в месте локализации инфекции.

Исследования пептидов ЛФб дают основания говорить о возможности того, что переваривание ЛФ материнского молока в желудке ребенка вносит определенный вклад в стимуляцию роста бифидобактерий, подавляет рост других микроорганизмов и определяет состав индигенной кишечной микрофлоры, характерной для грудного возраста. Более того, можно полагать, что эти эффекты будут проявляться не только при грудном вскармливании, но и при применении смесей, содержащих ЛФб или гЛФб. В последние годы были открыты несколько дополнительных биологических функций ЛФ, которые подтверждают его физиологическую значимость как антимикробного агента. Оригинальные исследования, выполненные на модели *Pseudomonas aeruginosa*, продемонстрировали, что комплексообразование ЛФ со свободным железом приводит к эффективному подавлению формирования бактериальной биопленки [30]. Экспериментально показано, что белок ЛФ ингибирует формирование биопленки, стимулируя особый тип движения микровор-

синок на поверхности клеток *P. aeruginosa*, который не позволяет бактериям прикрепиться к поверхности клеток хозяина и сформировать микроколонии. Надо отметить, что антибиопленочная активность ЛФ проявляется при крайне низкой концентрации ЛФ (0,02 мг/мл), то есть в пять раз меньше, чем это требуется для прямого ингибирования роста бактерий ЛФ. Установлено, что у больных с фиброзно-кистозной дегенерацией наблюдается повышенный протеолитический гидролиз и инактивация белка ЛФ, приводящие к хроническому заболеванию и формированию биопленки *P. aeruginosa* в дыхательных путях. В экспериментах *in vitro* получено подтверждение того, что именно протеолитическая деградация ЛФ обеспечивала потерю им способности ингибировать образование биопленки микроорганизмами. Эти исследования указывают на то, что антибиопленочная активность ЛФ участвует в защите организма от инфекций, вызываемых *P. aeruginosa*. ЛФ ингибирует сорбцию бактерии путем непосредственного связывания клеток возбудителя или опосредованно – через контакт с мембранами эукариот, что блокирует возможность развития инфекционного процесса. Аналогично ЛФ ингибирует начальные стадии развития вирусной инфекции, связываясь с вирусной частицей или с рецепторами клетки-хозяина, что экспериментально показано для ВИЧ, вируса гепатита С, вирусов герпеса 1 и 2, ЦМВ, ротавирусов и респираторного синцитиального вируса [2].

Исследования последних лет позволили установить, что ЛФ может проявлять антимикробные свойства через свою протеолитическую активность, которая была обнаружена у этого белка сравнительно недавно. Эксперименты показывают, что ЛФ гидролизует и инактивирует микробные белки, которые играют ключевую роль при бактериальной колонизации энтеропатогенной *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* и *Haemophilus influenzae*. Биохимическими методами установлено, что протеиназная активность ЛФ подавляется ингибиторами сериновых протеиназ, а каталитический центр, определяющий эту активность, располагается в N-концевом домене молекулы ЛФ. Консервативная природа протеолитического активного центра у молекулы ЛФ указывает на перспективность дальнейшего исследования этой функции белка [17]. Многочисленные эксперименты подтверждают то, что ЛФ может влиять на патогенез инфекционной патологии не только при непосредственном взаимодействии с бактерией или клеткой-мишенью, но и через стимуляцию

иммунной системы организма. Например, модуляция ЛФ иммунного ответа через Т-хелперные клетки 1 типа приводит к защите организма от инфекции *Staphylococcus aureus* у трансгенных мышей [14], а его способность активировать нормальные клетки-киллеры обеспечивает усиление прямого защитного эффекта этого белка против цитомегаловируса.

Хотя ЛФ является мощным антимикробным агентом и играет ключевую роль в системе врожденного иммунитета организма, следует отметить, что некоторые штаммы возбудителей, в частности *Streptococcus pneumoniae*, способны к связыванию и нейтрализации ЛФ через свой специальный мембранный белок А, предохраняющий их от повреждающего действия ЛФ [29], а представители родов *Moxarella* и *Neisseria* могут отнимать железо из комплекса ЛФ. Для этого они используют специальные мембранные белки, которые относятся к специфическими рецепторами для ЛФ [28].

Взаимодействие ЛФ и пробиотических микроорганизмов. Ранее проведенные исследования показали, что некоторые пробиотические бактерии могут быть устойчивы к антибактериальному действию ЛФ, однако результаты этих исследований противоречивы. Кроме того часть перорально принимаемого апо-лактоферрина (апо-ЛФ) расщепляется *in vivo* с помощью пепсина, при этом образуется гидролизат ЛФ, который обладает более высокой антибактериальной активностью, чем исходный апо-ЛФ. В то же время остается неясным вопрос о том, влияет ли гидролизат ЛФ на рост пробиотических микроорганизмов.

Для решения этой проблемы на Тайване исследователями была собрана коллекция разных пробиотических штаммов и оценена активность апо-лактоферрина быка (апо-ЛФб) и гидролизата ЛФб (гЛФб) *in vitro*[6]. Для репрезентативной оценки были выбраны 13 пробиотических штаммов бактерий. Показано, что апо-ЛФб и гидролизат ЛФб подавляли рост *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *L. salivarius* ATCC 11741, *L. rhamnosus* ATCC 53103, *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 и *B. lactis* BCRC 17394. На рост 8 штаммов микроорганизмов не влияли ни апо-ЛФб, ни гидролизат ЛФб, в их число входили *L. rhamnosus* ATCC 7469, *L. reuteri* ATCC 23272, *L. fermentum* ATCC 11739, *L. coryniformis* ATCC 25602, *L. acidophilus* BCRC 14065, *B. infantis* ATCC 15697, *B. bifidum* ATCC 29521 и *Pediococcus acidilactici* ATCC 8081. В то же время используемый ЛФб и его гидролизат оказывал ингибирующее

действие на анализируемые в работе штаммы *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecalis*. Кроме того супернатанты *L. fermentum*, *B. lactis* и *B. longum* подавляли рост большинства патогенов. Важно отметить, что комбинации апо-ЛФб или гидролизата ЛФб с супернатантами культур вышеперечисленных бактерий оказывали синергетическое или частично синергетическое действие в отношении большинства выбранных патогенов.

В другой работе проведено сравнение бифидогенной активности бычьего сывороточного лактоферрина (ЛФб) и пепсинового гидролизата ЛФб (гЛФб), а также бифидогенного пептида, выделенного из гЛФб, и более подробно изучены бифидогенные спектры ЛФб, гЛФб и соответствующего активного пептида на 42 штаммах бифидобактерий, относящихся к 9 видам [26]. Для *B. breve* ATCC 15700(Т) минимальные эффективные концентрации ЛФб и гЛФб составили 300 и 10 мкг/мл соответственно, *B. longum* подвида *infantis* ATCC 15697(Т) минимальная эффективная концентрация гЛФб составила 30 мкг/мл, а ЛФб не показал бифидогенной активности в концентрации до 300 мкг/мл. В качестве активного пептида был выделен гетеродимер из фрагментов А(1)-W(16) и L(43)-А(48), соединенных дисульфидной связью. Ранее именно у этого пептида была идентифицирована антибактериальная активность [8]. Данный активный пептид в концентрации 3,75 мМ активно способствовал росту (>150%) следующих видов бифидобактерий: *B. breve* (7 из 7 штаммов – 7/7), *B. longum* подвида *infantis* (5/5), *B. bifidum* (2/5), *B. longum* подвида *longum* (1/3), *B. adolescentis* (3/6), *B. catenulatum* (1/4), *B. pseudocatenulatum* (0/4), *B. dentium* (0/5) и *B. angulatum* (0/3). В то же время ЛФб в концентрации 3,75 мМ не способствовал существенному росту ни одного из перечисленных штаммов. Авторы показали, что гЛФб обладает более выраженной бифидогенной активностью, чем нативный ЛФб, особенно в отношении видов, представленных у детей раннего возраста (*B. breve* и *B. longum* подвида *infantis*).

Другой пептид – ВЛР может избирательно способствовать росту бифидобактерий и подавлять рост других микроорганизмов. ЛФб состоит из гомологичных доменов: N-концевого (остатки 1 – 339) и С-концевого (остатки 340 – 689) [27]. Последовательность ВЛР находится на N-концевом участке последовательности ЛФб по соседству с последовательностью лактоферри-

цин (ЛФ-цин) быка (ЛФ-цинБ). В данной работе не выявлены бифидогенные пептиды в С-домене молекулы ЛФб. Однако в более раннем исследовании [9] с использованием других условий гидролиза было показано, что N-концевая последовательность С-домена ЛФб содержит антибактериальный пептид, который может проявлять бифидогенную активность.

Относительно пептидов ЛФб последовательности двух аналогичных бифидогенных пептидов из ЛФ человека (ЛФч) также картированы, они расположены на N-концевом участке N-домена и на гомологичном участке С-домена [21, 27]. Гомология N-домена и С-домена в ЛФч составляет 37% [24]. Следовательно, N-концевые последовательности этих двух доменов могут выполнять одинаковые функции [26]. Бифидогенный пептид из N-концевого участка ЛФч – это ЛФ-цин человека (ЛФ-цинЧ), который соответствует участку от VLP до ЛФ-цинБ в молекуле ЛФб [21]. Однако информация по детальному пребиотическому действию ЛФч и его пептидов крайне мала и этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Противовоспалительные свойства лактоферрина. Как показано во многих публикациях, ЛФ помимо прямого антимикробного действия может позитивно влиять на воспалительный процесс инфекционного генеза. Это подтверждается экспериментами, в которых присутствие ЛФ защищало от гастритов, индуцируемых *Helicobacter pylori*, поддерживало целостность слизистой оболочки кишечника, снижало токсичность ЛПС и уменьшало летальность при инфицировании энтеротоксигенными *E. coli* [20]. Опыты с клеточными линиями и эксперименты на животных позволили установить, что защитный эффект ЛФ определяется, прежде всего, тем, что он ингибирует синтез ряда провоспалительных факторов, включая TNF- α , интерлейкины-1 и 6. Частично это обусловлено способностью ЛФ исключать из среды молекулярные индукторы Toll-подобных рецепторов и подавлять синтез провоспалительных цитокинов [19]. Доказательством служит то, что белок ЛФ эффективно связывает ЛПС и метилированную CpG бактериальную ДНК, исключая возможность активации нуклеарного фактора NF- κ B. Помимо действия ЛФ на воспалительные процессы, которые индуцируются инфекциями, показано, что этот белок участвует в регуляции воспаления при нейродегенеративных заболеваниях, воспалительной болезни кишечника, кожной аллергии, легочных заболеваниях и артритах.

Более того, в экспериментальных моделях воспалительного процесса на животных добавление ЛФ приводило к ингибированию аллергической реакции. Например, ЛФ эффективно защищает против химического или IL-1 индуцированного острого воспаления у животных и человека, химически индуцированного кишечного воспаления, воспаления пищеварительного тракта, вызываемого нестероидными препаратами и воспаления при ревматоидных артритах [16]. Во многих случаях противовоспалительный эффект в указанных экспериментах сопровождался снижением концентрации медиаторов воспаления и индукцией противовоспалительных цитокинов, например, интерлейкина-10. Механизм действия ЛФ во время воспаления полностью не раскрыт, но способность этой биомолекулы связываться со специфическими рецепторами многих иммунных клеток, включая нейтрофилы, моноциты, макрофаги и лимфоциты, а также с рецепторами эпителиальных клеток, указывает на возможность регуляции лактоферрином синтеза различных цитокинов через рецептор-зависимые метаболические сигналы. К другим противовоспалительным эффектам ЛФ относят возможность данного белка связывать железо в очаге воспаления, что приводит к уменьшению поражения клеток свободными радикалами и снижению аллергического астматического шока через дестабилизацию триптазы.

Следует отметить, что большинство исследований на ЛФ были выполнены с использованием бычьего (ксеногенного) варианта этого белка. Между тем хорошо известно, что по набору аминокислот ЛФч и ЛФб совпадают лишь на 67% [22]. Различия в первичной структуре обоих белков обуславливают формирование у них разной вторичной и третичной структуры, что может определять их функциональные особенности [13]. Образующиеся при расщеплении ЛФб и ЛФч ЛФ-цины различны как по аминокислотному составу, так и по биологической активности. Различия между ЛФч и ЛФб имеются и в особенностях гликозилирования, которое, как известно, существенно влияет на активность белка. Отсюда, исследования влияния ЛФч на бифидобактерии и лактобациллы, которые составляют основу пробиотических комплексов, являются первостепенной задачей при разработке комплексного препарата. Учитывая присутствие в кишечнике человека специфических только к гомологичному ЛФ рецепторов, следует ожидать, что использование в качестве противомикробного и противовоспалительного средства

именно ЛФч может оказаться более выраженным и эффективным в составе комплексных пробиотических препаратов, так как ЛФ может обеспечивать лучшую приживляемость пробиотической микрофлоры, ингибируя рост условно-патогенных бактерий.

(Работа поддержана Министерством образования и науки РФ - Госконтракт № 01.916.12.0001).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко В.М. Обоснование и тактика назначения в медицинской практике различных форм пробиотических препаратов. Фарматека. 2013. 13: 77-87.
2. Черноусов А.Д., Никонова М.Ф., Шарова Н.И., Митин А.Н., Литвина М.М., Садчиков П.Е., Гольдман И.Л., Ярилин А.А., Садчикова Е.Р. Неолактоферрин как стимулятор врожденного и адаптивного иммунитета. Acta Naturae. 2013. 3 (18): 67-73.
3. Ainscough E.W., Brode A.M., Plowman J.E. The chromium, manganese, cobalt and copper complexes of human lactoferrin. Inorg. Chem. Acta. 1979. 33: 149-153.
4. Baker E.N., Baker H.M. Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin. Cell. Mol. Life Sci. 2005. 62: 2531-2539.
5. Bengoechea C., Jones O.G., Guerrero A., McClements D.J. Formation and characterization of lactoferrin/pectin electrostatic complexes: Impact of composition, pH and thermal treatment. Food Hydrocolloids. 2011. 25: 1227-1232.
6. Chen P.W., Jheng T.T., Shyu C.L., Mao F.C. Antimicrobial potential for the combination of bovine lactoferrin or its hydrolysate with lactoferrin-resistant probiotics against foodborne pathogens. J Dairy Sci. 2013. 96 (3): 1438 -1446.
7. Davidson L.A., Lonnerdal B. Persistence of human milk proteins in the breast-fed infant. Acta Paediatr Scand. 1987. 76: 733-740.
8. Dionysius D.A., Milne J.M. Antibacterial peptides of bovine lactoferrin: purification and characterization. Journal of Dairy Science. 1997. 80: 667-674.
9. Elbarbary H. A., Abdou A. M., Park E. Y. et al. Novel antibacterial lactoferrin peptides generated by rennet digestion and autofocusing technique. Int. Dairy J. 2010. 20: 646-651.
10. Ellison R.T., Giehl T.J., Laforce F.M. Damage of the outer membrane of enteric gram-negative bacteria by lactoferrin and transferring. Infect. Immun. 1988. 56: 2774-2781.
11. Farnaud S., Evans R.W. Lactoferrin a multifunctional protein with antimicrobial properties. Mol. Immunol. 2003. 40(7): 395-405.
12. Furmanski P., Li Z.P., Fortuna M.B. et al. Multiple molecular forms of human lactoferrin. J. Exp. Med. 1989. 170: 415-429.
13. García-Montoya I. A., Cendón T.S., Arévalo-Gallegos S., Rascón-Cruz Q. Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview. Biochem. Biophys. Acta. 2012. 1820: 226-236.
14. Guillen C., McInnes I.B., Vaughan D.M. et al. Enhanced Th1 response to Staphylococcus aureus infection in human lactoferrin-transgenic mice. J. Immunol. 2002. 168: 3950-3957.
15. Hakansson A., Zhivotovsky B., Orrenius S. et al. Apoptosis induced by a human milk protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995, 92(17): 8064-8068.
16. Hayashida K., Kaneko T., Takeuchi T. et al. Oral administration of lactoferrin inhibits inflammation and nociception in rat adjuvant-induced arthritis. J. Vet. Med. Sci. 2004. 66: 149-154.
17. Hendrixson D.R., Qiu J., Shewry S.C. et al. Human milk lactoferrin is a serine protease that cleaves haemophilus surface proteins at arginine-rich sites. Mol. Microbiol. 2003. 47: 607-617.
18. Jenssen, H., Hancock R.E. Antimicrobial properties of lactoferrin. Biochem. 2009. 91 (1): 19-29.
19. Kaisho T., Akira S. Pleiotropic function of Toll-like receptors. Microbes Infect. 2004. 6: 1388-1394.

20. Lee W. J., Farmer J. L., Hilty M., Kim Y. B. The protective effects of lactoferrin feeding against endotoxin lethal shock in germfree piglets. *Infect. Immun.* 1998. 66: 1421-1426.
21. Liepke C., Adermann K., et al. Human milk provides peptides highly stimulating the growth of bifidobacteria. *Eur. J. Biochem.* 2002. 269 (2): 712-718.
22. Magnuson J.S., Henry J.F., Yip T.T., Hutchens T.W. Structural homology of human, bovine, and porcine milk lactoferrins: evidence for shared antigenic determinants. *Pediatr Res.* 1990. 28 (2): 176-181.
23. Mann D. M., Romm E., Migliorini M. Delineation of the glycosaminoglycanbinding site in the human inflammatory response protein lactoferrin. *J Biol Chem.* 1994. 269 (38): 23661-23667.
24. Metz-Boutigue M.-H., Jolles J., Mazurier J. et al. Human lactotransferrin: amino acid sequence and structural comparisons with other transferrins. *Eur. J. Biochem.* 1984. 145: 659-676.
25. Mizutani K., Toyoda M., Mikami B. X-ray structures of transferrins and related proteins. *Biochem. Biophys. Acta.* 2012. 1820: 203-211.
26. Oda H., Wakabayashi H., Yamauchi K. et al. Isolation of a bifidogenic peptide from the pepsin hydrolysate of bovine lactoferrin. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013. 79(6): 1843-1849.
27. Pierce A. et al. Molecular cloning and sequence analysis of bovine lactoferrin. *Eur. J. Biochem.* 1991. 196: 177-184.
28. Schryvers A.B., Lee B.C. Comparative analysis of the transferrin and lactoferrin binding proteins in the family Neisseriaceae. *Can. J. Microbiol.* 1989. 35: 409-415.
29. Shaper M., Hollingshead S.K., Benjamin W.H.Jr., Briles D.E. PspA protects *Streptococcus pneumoniae* from killing by apolactoferrin, and antibody to PspA enhances killing of pneumococci by apolactoferrin [corrected]. *Infect. Immun.* 2004. 72: 5031-5040.
30. Singh P.K., Parsek M.R., Greenberg E.P., Wilsh M.J. A component of innate immunity prevents bacterial biofilms development. *Nature.* 2002. 417: 552-555.
31. Steijns J.M., van Hooijdonk A.C.M. Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin. *Br. J. Nutr.* 2000. 84 (Suppl. 1): S11-S17.
32. Troost F.J., Steijns J., Saris W.H., Brummer R.J., Gastric digestion of bovine lactoferrin in vivo in adults. *J. Nutr.* 2001. 131 (8): 2101-2104.
33. Van Berkel P.H., Geerts M.E., van Veen H.A. et al. N-terminal stretch Arg2, Arg3, Arg4 and Arg5 of human lactoferrin is essential for binding to heparin, bacterial lipopolysaccharide, human lysozyme and DNA. *Biochem. J.* 1997. 328 (Pt 1): 145-151.
34. Van der Kraan M.I.A., Groenink J., Nazmi K. et al. Lactoferrampin: a novel antimicrobial peptide in the N1-domain of bovine. *Peptides.* 2004. 25 (2): 177-183.
35. Vasilyev V.B. Interactions of caeruloplasmin with other proteins participating in inflammation. *Biochem. Soc. Trans.* 2010. 38 (4): 947-951.
36. Ward P.P., Uribe-Luna S., Conneely O.M. Lactoferrin and host defense. *Biochem. Cell. Biol.* 2002. 80: 95-102.
37. Yamniuk A. P., Burling H., Vogel H. J. Thermodynamic characterization of the interactions between the immunoregulatory proteins osteopontin and lactoferrin. *Mol. Immunol.* 2009. 46(11-12): 2395-2402.

Поступила 31.12.2013

*(Контактная информация: **Бондаренко Виктор Михайлович** - академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи; E-mail: bvmz@yandex.ru)*