

Lactoferrina: proteína que secuestra hierro en las mucosas

¹Nidia León-Sicairos y ²Verónica Picos Cárdenas

¹Laboratorio de Biología Celular de la Unidad de Investigación de la Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Sinaloa. Cedros y Sauces, Fraccionamiento Fresnos, Culiacán Sinaloa. C.P. 80246.

E-mail: nidialeonsicairos@gmail.com

²Laboratorio de Genética Humana de la Unidad de Investigación de la Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Sinaloa. Cedros y Sauces, Fraccionamiento Fresnos, Culiacán Sinaloa. C.P. 80246.

E-mail: veronica06735@yahoo.com.mx

Índice

1. [Introducción](#)
2. [Síntesis y localización de Lactoferrina](#)
3. [Estructura de la Lactoferrina, mecanismo de retención y liberación del Hierro](#)
4. [Isoformas de la Lactoferrina y Glicosilación](#)
5. [Polimorfismos en el gen de Lactoferrina e implicaciones biológicas](#)
6. [Péptidos derivados de la Lactoferrina y Lactoferrinas Recombinantes](#)
7. [Receptores que reconocen Lactoferrina en células humanas](#)
8. [Lactoferrina en la Respuesta Inmune](#)
9. [Lactoferrina en el metabolismo del Hierro](#)
10. [Sinergia de la Lactoferrina con Quimioterapéuticos y Efectores de la Respuesta Inmune](#)
11. [Aplicaciones de la Lactoferrina y Perspectivas](#)
12. [Conclusiones](#)
13. [Referencias](#)

Resumen

En los capítulos anteriores de este libro se han descrito proteínas que unen, almacenan o transportan hierro. El presente capítulo describe brevemente la estructura, función y aplicación de otro miembro de la familia de las Transferrinas, la proteína conocida como Lactoferrina o Lacto-transferrina (Lf).

Seguramente al terminar de leer este capítulo se dará cuenta de lo interesante que resulta esta proteína, la cual, a pesar de ser una molécula con homología e identidad muy alta a las otras integrantes de la familia, es a la misma vez muy diferente en cuanto a funciones y propiedades. Pequeñas diferencias en la estructura y conformación tridimensional la convierten en una proteína especial y fascinante, sobre todo en el sentido de su multifuncionalidad y expectativas en aplicaciones, característica que no comparte del todo con las otras transferrinas o con proteínas que tienen Fe.

Por todo ello, la Lf ha sido considerada parte de las proteínas “moonlighting”, término emergente en el campo de la Biología Celular y Molecular, acuñado a proteínas con una función bien descrita y caracterizada; pero que en un ambiente diferente estas funciones pueden cambiar y ser precisamente las opuestas a las esperadas.

Palabras clave: lactoferrina, transferrina, hierro, proteínas multifuncionales.

1. Introducción

La **Lactoferrina (Lf)** es una **glicoproteína perteneciente a la familia de las Transferrinas, y por ello también une hierro (Fe)**. Aunque fue descrita por Sörensen desde 1939, no fue sino hasta que se aisló de la leche de bovinas cuando se iniciaron los estudios en su estructura, funciones y aplicaciones [1].

La Lf es una **proteína multifuncional** y es considerada **parte de la respuesta inmune no específica de mamíferos**. Cabe destacar que entre sus múltiples funciones sobresalen sus actividades como **microbioestático, microbicida de amplio espectro, antitumoral y antioxidante**. Además, por el hecho de contener Fe se ha postulado como una proteína **de gran valor nutricional** [2,3,4].

2. Síntesis y localización de la Lactoferrina

La lactoferrina se sintetiza en la glándula mamaria en respuesta a la **hormona prolactina y solamente durante el periodo de la lactancia**, llegándose a secretar concentraciones de **1-2 mg/ml en leche madura y hasta 15 mg/ml en el calostro**. En el útero se sintetiza en respuesta a estrógenos, en otros revestimientos mucosos, la síntesis de Lf también es regulada por hormonas.

La Lf **se encuentra principalmente en el calostro de algunas especies de mamíferos tales como bovinos, ratón, conejo, camello**, etc., aunque también es muy abundante en la leche madura. También es **sintetizada y secretada por las células acinares y glándulas secretorias que revisten sitios mucosos**, por ello es común encontrarla en secreciones pulmonares, intestinales, vaginales etc., y en fluidos corporales tales como lágrimas, saliva, etc. [5,6].

Es muy importante hacer notar que **se encuentra en neutrófilos**, específicamente en los gránulos secundarios de estas células blancas, razón por

la cual **en procesos de inflamación la Lf también se encuentre en la sangre** [7,8]. Las localizaciones tan diversas donde se puede encontrar la Lf es una de las razones por las cuales **tiene un rol multifuncional**, que no comparte del todo con los miembros de su familia. Sin embargo, al igual que la Tf y la ovotransferrina, **puede contener Fe** (conociéndosele así como **holoLf**), ó bien, encontrarse libre de este metal (se le denomina **apoLf** en este estado) [9].

¿Por qué Lf se encuentra en los gránulos secundarios de los neutrófilos?

Se sabe que la **Lf se secreta de los gránulos secundarios de los neutrófilos**, ya que se sintetiza y almacena en los gránulos secundarios de neutrófilos maduros, durante su transición de **promielocito a mielocito**.

El objetivo de la liberación de Lf en sitios inflamados **es secuestrar el Fe disponible**, que puede ser tomado por los patógenos para crecer y establecerse dentro de un organismo. Por tanto, en el proceso conocido como **hiposideremia (o hipoferremia) de la infección**, o anemia carencial por déficit de Fe que sufre un paciente con infecciones agudas, **el papel principal lo ocupa la Lf, ya que se libera en la forma libre de Fe para tomar todo aquel átomo de este metal que queda libre**, ya sea porque la Tf lo está liberando debido a la acidez del sitio, o bien, por otros procesos fisiológicos [8]. **Los microorganismos mueren por déficit de hierro** y por ello se considera que la Lf tiene **acción microbioestática**, al impedir el crecimiento de patógenos [10,11].

Si acaecemos de hablar de la Lf humana, **la regulación de su síntesis es específica para cada tejido y está sometida a control hormonal** [12]. Es importante mencionar que en seres humanos la Lf se secreta como apoLf por las células epiteliales de glándulas mamarias, lagrimales, salivales, páncreas y bilis. De allí que es parte de la respuesta inmune inespecífica en el recién nacido. Dependiendo de su sitio de secreción, la Lf humana está distribuida en

secreciones bronquiales, vaginales, seminales [13], jugo pancreático y gástrico, bilis, lágrimas y saliva [12].

La Lf se encuentra en muy pequeña cantidad en plasma, ésta deriva predominantemente de neutrófilos y su concentración puede ser baja en condiciones normales, **pero es elevada durante procesos inflamatorios**, debido a la desgranulación de los neutrófilos y la liberación de Lf [13].

Las concentraciones en seres humanos van de mayor a menor: en el **calostro** de (7-15 mg/ml), **leche** (1.2 mg/ml), **lágrimas** (2.2 mg/ml), **líquido seminal** (0.44-1.92 mg/ml), **moco vaginal** (62.9-218 µg/mg de proteína), **moco bronquial** (28.7-41.7 µg/ml) y **líquido amniótico** (2-32 µg/ml). Bajo condiciones normales la concentración de Lf en el líquido plasmático es relativamente baja (0.4-2.0 mg/L), sin embargo; en pacientes con cuadros de sepsis los neutrófilos se activan y desgranulan secretando la Lf en su forma libre de Fe (apoLf) al torrente sanguíneo y alcanza niveles significativos (~200 mg/L) [7].

3. Estructura de la Lactoferrina, mecanismo de retención y liberación del Hierro

Lf es una glicoproteína monomérica que consta de aproximadamente **703 restos de aminoácidos** y tiene un **peso molecular aproximado de 80 kDa** [14]. La Lf, al igual que otros miembros de su familia, se divide en dos lóbulos conocidos como **lóbulos N y lóbulos C**. Cada lóbulo está a su vez subdividido en dos dominios N1 y N2 del extremo amino, y C1 y C2 del extremo carboxilo. Existe un sitio fijador de Fe localizado en cada uno de los lóbulos N y son idénticos entre sí.

La liberación de los dos átomos de Fe³⁺ de la Lf ocurren análogamente con la vinculación de dos aniones de bicarbonato (CO₃²⁻), un proceso esencial

para también unir el Fe a la Lf. Dos residuos básicos localizados atrás del sitio de unión a Fe (Arg210 y Lys301) modulan la liberación de Fe. **La liberación del Fe puede ocurrir cuando la proteína se encuentra en un medio muy ácido**, que permita un cambio de cargas en los aminoácidos implicados en el sitio de unión a Fe, cuando se encuentra en un medio muy ácido o bien frente a un quelante con una constante de afinidad mayor por el metal.

Por otro lado, **los aminoácidos que contribuyen a la fijación del Fe en la hendidura son 2 tirosinas, 1 aspartato y 1 histidina** [15]. Por cristalografía se ha logrado determinar que para que haya liberación del Fe son necesarios también movimientos en un dominio rígido localizado en cada uno de los lóbulos. También se ha demostrado que el dominio lóbulo C puede adoptar formas abiertas sufriendo cambios conformacionales tal como ocurren en el lóbulo N de la proteína [15].

El papel de CO_3^{2-} parece ser doble. Por un lado **neutraliza las cargas positivas que podrían rechazar al catión** y por otro **prepara el sitio fijador del Fe** en la apo-Lf agregando dos ligandos más potentes. **Como resultado de la fijación del Fe se produce el cierre de la hendidura inter-dominio** [14].

Existe una notada homología entre los dos lóbulos (los aminoácidos 1-333 y 345-692, respectivamente) de la proteína Lf. Se ha demostrado la presencia de 125 (37%) aminoácidos idénticos en los respectivos lóbulos, los cuales muestran una estructura terciaria muy similar. Esto ha llevado a proponer una **teoría** donde se menciona la posible **duplicación del gen**, que podría haber ocurrido hace millones de años, cuando **el gen original se copió y la proteína, que era de 40 kDa se reprodujo**, mientras formaba los dos dominios y dando así lugar a una familia de proteínas con una masa molecular de 80 kDa [16].

Como anteriormente mencionamos, la Lf puede existir tanto libre de Fe (apo-Lf), como saturada con Fe (holo-Lf). Sabiendo esto pudiéramos pensar que la única diferencia son los dos átomos de Fe, pero esto no es del todo cierto y aquí viene un punto muy importante; **estas moléculas de Lf tienen diferente**

conformación tridimensional, siendo más estable a la degradación y a la temperatura la holo-Lf. Las diferencias principales entre la apo-Lf y la holo-Lf se centran en el lóbulo N [17]. En apo-Lf el Lóbulo N tiene una conformación abierta (un ángulo de 53° entre los subdominios N1 y N2), mientras que el lóbulo C tiene una conformación cerrada (los subdominios C1 y C2 se acercan). Esta conformación la vuelve más resistente contra la desnaturalización por calor y proteólisis.

La conformación cerrada de holoLf se pierde cuando se desestabiliza la estructura, y esto puede ser por ejemplo cuando la Lf se une a un receptor bacteriano o de otro tipo (lo mismo ocurre con Tf), cuando está en un pH muy ácido (menos de 4.0), ó cuando hay protonación del ion carbonato (se desestabiliza la estructura cerrada y se libera el Fe). **La diferencia entre apoLf y holoLf** en la estructura conformacional se **debe entonces simplemente a movimientos en los dominios de la proteína**, y la forma de apoLf ofrece interacción con mayor número de moléculas [18,19].

La secuencia de la Lf humana se ha estudiado de diferentes fuentes: la primera secuencia de aminoácidos se realizó en Lf de leche materna y la secuencia del **ADNc en células mieloides y glándula mamaria**. Estas secuencias fueron prácticamente idénticas. Sin embargo, las estructuras cristalográficas de las diferentes Lfs humanas sugieren que son tres residuos de argininas (GRRRS), y no cuatro (GRRRRS), los presentes en el extremo N-terminal de la proteína. Esta discrepancia es consecuencia de la flexibilidad en su región N-terminal y por eso la densidad en ese punto es ambigua [20].

4. Isoformas de la Lactoferrina y Glicosilación

La Lf puede existir en tres isoformas [21]: Lf-β y Lf-λ con actividad de RNasa, y Lf-α que no presenta actividad de RNasa. Las tres isoformas se

encuentran en la leche materna y en los neutrófilos [21,22]. **Estas isoformas comparten las mismas características físicas, químicas y antigénicas, pero difieren en sus propiedades funcionales.** Las isoformas con actividad de RNasa no muestran funciones fijadoras de Fe, mientras que la isoforma fijadora de Fe no presenta ninguna actividad de RNasa. De alguna manera, estos resultados explican parcialmente la diversidad de información sobre las diferentes funciones atribuidas a la Lf.

La Lf de la leche humana tiene tres puntos potenciales de glicosilación, en las asparaginas (Asn) 137, 478 y 623. Se considera que son dos los esenciales e importantes, uno localizado en el extremo C-terminal y otro en el N-terminal); sin embargo, el grado de glicosilación varía (y por tanto la masa molecular de la proteína varía también entre 76 y 80 kDa). No obstante, los residuos de glicósidos presentes en la Lf son característicos [23]. En la Lf de ratón se encuentra sólo un sitio (Asn476), y en la Lf de bovinas cuatro (Asn233, Asn368, Asn476 y Asn545), en la Lf de cabras y ovejas, cinco (As233, Asn368, Asn476, y Asn545).

La pregunta obligada es **¿tendrán estos sitios algún impacto en la estructura y función de la Lf?**, la pregunta es interesante, la respuesta no se puede formular aún con los datos hasta ahora reportados. Se sabe que los sitios de glicosilación se encuentran expuestos en la superficie de la proteína, sin embargo, Baker y colaboradores han mencionado que la liberación del Fe en la interacción con otras moléculas (como ADN y LPS) no se ha visto afectada por la pérdida de los carbohidratos, por lo tanto estos sitios no forman parte de la capacidad bactericida de la Lf, al menos no en la de las bacterias Gram-negativas, que son las que tienen LPS en su membrana externa.

Los azúcares encontrados son **glicanos poli-N-acetil-lactosamínicos** que contienen ácido **N-acetinauramínico y galactosa** [16]. La estructura primaria de los glicanos de la Lf de las células polimorfonucleares (neutrófilos) humanos es

idéntica a la de los glicanos de la Lf de la leche humana. **Se ha descrito que la elevada resistencia de Lf a proteasas, variaciones de pH, etc., podría deberse en parte a la glicosilación [24].**

Se ha sugerido que los sitios de glicosilación son importantes en las propiedades antivirales de la Lf, ya que **algunos glicanos en las superficies celulares facilitan la entrada de virus patógenos a las células.** Lf podría modificar las propiedades de unión de los virus a los glicanos y por lo tanto impedir la interacción con la célula blanco. Lo mismo pudiera ocurrir con algunas toxinas bacterianas (como las de *Bordetella pertusis* y *Staphylococcus aureus*), las cuales tienen afinidad por residuos de carbohidratos presentes en las células.

Por eso se sugiere que parte de las funciones de la Lf liberada por neutrófilos es, además de secuestrar el Fe, neutralizar las propiedades de adhesión y de unión que tienen los virus y toxinas bacterianas por sitios glicanos presentes en las células del hospedero. Esto reforzaría el papel de la Lf en la respuesta inmune innata, sin embargo, es necesario estudiar más a detalle dichos efectos.

La Lf es notablemente resistente a la degradación proteolítica por la tripsina y enzimas similares a ésta, dándole una resistencia parcial al efecto de la digestión en el intestino [15]. Esta propiedad facilita la absorción neonatal de la Lf de la leche materna [4,25].

5. Polimorfismos en el Gen de la Lactoferrina e implicaciones biológicas

Lactoferrina pertenece a la familia de las Transferrinas (Tfs), sus genes cuentan con una interesante expresión constitutiva e inducible [26,27]. Su localización en el cromosoma humano es en la región 3p21.3, en los bovinos se

encuentra en el 22 y en el ratón en el 9, respectivamente. El gen, cuyo tamaño varía de 23-35 kb, contiene 17 exones de los cuales 15 codifican para una secuencia de aminoácidos idénticos entre las diferentes especies [27]. **Las principales diferencias se encuentran en el gen de la Lf de ratón y bovinos, con aproximadamente 22 aminoácidos diferentes en la proteína.** Por otro lado, **la Lf bovina y la porcina cuentan con 1-2 aminoácidos menos que la Lf humana** [26,27].

El codón de interrupción intrón-exón para el corte y empalme es altamente conservado en 12 de las 16 uniones e idéntico en los genes de la Lf humana, de ratón, bovina y porcina [26]. **La Lf humana comienza con una glicina seguida de cuatro argininas, las cuales la hacen única con respecto a las otras especies. Es esta región muy importante en la interacción y por lo tanto a ella se debe parte del efecto bactericida de amplio efecto que presenta** [26].

Los promotores del gen de Lf en diferentes especies contienen una **caja TATA con un sitio adyacente SP1, GATAAA** y el elemento adyacente AP1/CEBP [26,27]. **Estos promotores tienen múltiples elementos de respuesta a hormonas esteroideas, por ello la síntesis de la Lf es regulada diferencialmente por estas hormonas** [26].

A la fecha, se han reportado polimorfismos genéticos en la región reguladora de los genes de Lf bovina y humana [26], aunque su importancia y asociaciones en efectos funcionales aún siguen en estudio. Así también, se han descrito polimorfismos en la región codificante [26]. **Existen mutaciones en estas regiones que pueden afectar la estructura de la proteína y a su vez, alterar su función biológica.**

Además, los polimorfismos que causan sustituciones de aminoácidos en la superficie de la proteína pueden no afectar su estructura proteica pero sí alterar sus propiedades de superficie [26]. **Las alteraciones en la secuencia N-terminal**

de la proteína son particularmente importantes debido a su gran implicación de esta porción de la Lf y su actividad biológica [26].

En su estructura, la Lf muestra muchas características en común con la Tf sérica, incluyendo la capacidad para unir el hierro con una mayor constante de afinidad pero que puede ser reversible (debido al pH), y además, una estructura tridimensional altamente conservada con sitios de unión a hierro esencialmente idénticos [18]. En cuanto al mecanismo de liberación del hierro, **un punto importante ha sido** el “desencadenador de di-lisina” en el cual se encuentran **dos lisinas en la Tfs** (Lys 206 y Lys 296) que se unen por puentes de hidrógeno en el lóbulo-N, **ellas tienen como capacidad liberar el hierro más fácilmente que la Lf humana**, en la cual **Arg 210 y Lys 301 son equivalentes a las lisinas mencionadas antes, sin embargo ellas no interactúan y debido a que Lys 301 toma una conformación diferente, ésta se une a Glu 216 formando un puente de sal y por lo tanto con más afinidad y retención por el hierro [28].**

Recientemente se realizó un **análisis bioinformático de genes de Lf** de 11 especies. Se observaron nuevos cambios en los restos de aminoácidos de la proteína siendo **8 en Homo sapiens, 6 en Mus musculus, 6 en Capra hircus, 10 en Bos taurus, y 20 en Sus scrofa**, esta especie presentó más polimorfismos que cualquier otra [29]. Esto hace pensar en la **diversidad funcional de la Lf derivada de diferentes especies.**

Se han descrito algunas implicaciones clínicas de polimorfismos tanto en genes de Lf humanos como en otras especies. En el humano se ha comentado que el **polimorfismo Glu 561 Asp** se ha relacionado con susceptibilidad a infecciones tales como **Keratitis por Herpes Simple**, donde el efecto protector lo provee la variante Asp 561 [30]. Así también, **el polimorfismo rs 1126478** con genotipo AG ha sido relacionado con **Periodontitis Juvenil Localizada**, siendo el

portador heterocigoto asociado a una forma más agresiva de la enfermedad y la aparición de la A reduce dicha agresividad [31].

De la misma manera, **este polimorfismo ha sido relacionado con una menor concentración de triglicéridos y una mayor concentración de colesterol HDL por ingesta en hombres** [32]. Igualmente, el polimorfismo rs 1126477, ha sido relacionado con una menor concentración de triglicéridos en hombres, cuando se compararon los heterocigotos AG con los homocigotos G [32]. **Se ha propuesto que existen SNPs en los genes de Lf e IL-8 y que ellos podrían estar asociados a la susceptibilidad de personas que viajan a países en vías de desarrollo a adquirir “la diarrea del viajero”** [33].

Por otra parte, estudios **en bovinos Irlandeses han encontrado diferencias de polimorfismos en la región promotora GATA-1 de los factores de transcripción Sp1**, con respecto a las de otras poblaciones [34]. En la población animal **Holstein Friesian** ha sido observado un polimorfismo T/A SNP, el cual resulta en la sustitución Val89Asp en la Lf madura [26]. Otros SNPs se han encontrado donde se observaron sustituciones de aminoácidos en la secuencia del péptido Lf B, así como un A/G SNP asociado a un cambio de Tyr 181Cys en la población **Jersey** [26]. **Estos polimorfismos pueden tener implicaciones en los niveles de expresión de la Lactoferrina y pudieran ser puntos clave para los estudios de resistencia a Mastitis en estas especies** [26,35,36].

6. Péptidos derivados de la Lactoferrina y Lactoferrinas Recombinantes

Sin lugar a dudas, el hecho de encontrar péptidos o residuos de aminoácidos responsables de la acción microbicida, que se generaban de manera natural en la Lf en su paso por el intestino, fue uno de los hechos más importantes. Esto fue desde el año de **1982**, cuando Wayne Bellamy y

colaboradores, investigadores del laboratorio de Ciencias Nutricionales de Morinaga Milk Co. de Japón, **reportaron un fragmento de Lf que se producía *in vivo* por la degradación de la Lf bovina en intestino con la enzima gástrica pepsina; posteriormente demostraron que éste era el responsable de la acción bactericida de Lf** [37,38].

Este grupo de Investigadores obtuvo el péptido en el laboratorio usando Lf humana y bovina, que digirieron con pepsina o tripsina, encontrando que este péptido correspondía en secuencia a uno de los aislados e identificados en las heces de personas, indicando que se podía generar *in vivo*. **Posteriormente, ellos se dieron a la tarea de secuenciarlo y encontraron que se trataba de un asa de 18 residuos de aminoácidos formados por un puente disulfuro de los residuos de cisteína 20-37 para el péptido generado a partir de la Lf humana, y de 19-36 para el generado por la Lf bovina, este péptido se localizaba en el dominio amino terminal o N1.**

Este grupo de investigadores probó ambos péptidos en una serie de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, encontrando que **eran letales** a concentraciones muy bajas. Las bacterias son ***Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris, Yersinia enterocolitica, Pseudomonas aeruginosa, Campylobacter jejuni, Staphylococcus aureus, Corynebacterium diphtheriae, Streptococcus mutans, Listeria monocytogenes y Clostridium perfringens*** [38].

Entre sus investigaciones mencionaron que **agregar iones de cargas positivas al medio de cultivo disminuía la capacidad bactericida de los péptidos, que el péptido de origen bovino era más efectivo y que actuaban mucho mejor que la Lf nativa.** Por otro lado, las bacterias ***Pseudomonas fluorescens, Enterococcus faecalis and Bifidobacterium bifidum,*** no resultaron afectadas cuando se incubaron con los péptidos, sugiriendo que

son específicos sólo para microorganismos patógenos en sitios que no tienen los comensales [38].

Este grupo de investigadores nombró Lactoferricinas (Lfcins) a los péptidos, Lfcin B para las Lfcin bovina y Lfcin H para la humana, respectivamente. Desde ese tiempo, se dice que en la porción amino terminal de la lactoferrina, específicamente en esta porción conocida como Lfcin, radica la capacidad microbicida. Se han identificado otras porciones cercanas o que contienen estos aminoácidos, siguen llamándose LFcins, lo único que varía son algunos aminoácidos que las constituyen.

En el año 2005, en el laboratorio del Dr. Bolscher, su colaboradora Marierke Van Deer Kran demostró que una porción localizada en el dominio amino terminal N1 de la Lf, cercana a la identificada como Lfcin B también poseía fuertes propiedades microbicidas en *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, y *Pseudomonas aeruginosa*, en comparación con la Lf nativa [39,40]. A este péptido lo nombraron Lactoferrampina (Lfampin) y se constituye del fragmento de aminoácidos 265-284 de la Lf bovina [39]. Lfampin también actúa a nivel de membranas, esto se demostró en *Candida albicans*.

En el año 2007, el Dr. Bolscher fusionó la Lfcin17-30 y Lfampin265-284 y obtuvo un nuevo péptido al que llamó Lf quimera. Lf quimera es un péptido con una carga positiva neta mayor que sus péptidos de origen, interacciona más fuertemente con modelos de membranas negativamente cargadas, y lo más importante y más interesante, en experimentos cuando se agregaron concentraciones de sal no se perdió su actividad bactericida o fungicida.

El hallazgo de que el péptido Lf quimera funciona independientemente de la concentración de sal lo hace proponerlo como el mejor de los péptidos catiónicos con propiedades microbicidas, ya que todos los péptidos catiónicos encontrados hasta hoy pierden su efecto microbicida en altas concentraciones de

sal, y esto puede ser una importante desventaja al proponerlos como preventivos o terapéuticos en infecciones o en otras patologías.

De hecho, en un trabajo nuestro, **Lf quimera fue efectivo en especies patógenas de *Vibrio* [41], organismos halofílicos** que crecen en altas concentraciones de sal, entonces con ello queda demostrado que el péptido Lf quimera posee ventajas, sin embargo **es necesario conocer bien a qué nivel actúa, cómo ejerce su función y también si es más efectivo que la Lf nativa o sus péptidos de origen** (Lfcin17-30 y Lfampin265-284).

Lf quimera es también efectivo en *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, y *C. albicans*. Como la carga positiva es muy alta en este péptido, **se sugiere que se une a componentes lipídicos de carga negativa localizados en la membrana de los organismos sensibles.** Lf quimera, además de poseer aminoácidos cargados positivamente tales como sus péptidos constituyentes, **adopta una conformación espacial similar a Lf nativa**, esta conformación no la pueden adoptar Lfcin17-30 y Lfampin265-284, y tal vez esto sea en parte la explicación por la cual es más efectivo y su capacidad microbicida no se vea afectada en altas concentraciones de sal. Este péptido actualmente se encuentra en los primeros ensayos pero es el que presenta mayor acción microbicida.

Existen también **Lactoferrinas recombinantes** y ellas se pueden producir a gran escala, tal es el caso de la **Talactoferrina, una Lf producida en el hongo *Aspergillus niger*** por la compañía Aggenix (USA). Esta proteína **se ha usado en ensayos clínicos en pacientes con cáncer y en pacientes con diabetes que presentan úlceras.** Existen otras Lfs tanto humanas como bovinas, sin embargo, ahora lo que se quiere obtener son los péptidos, ya que su acción microbicida es mayor. En el caso de las quimeras, actualmente se están tratando de producir tanto de manera sintética como recombinante.

7. Receptores que reconocen Lactoferrina en células humanas

Los estudios descritos acerca de los receptores membranales para Lf muestran **alta afinidad y especificidad**. Adicionalmente, **estos receptores no interactúan con otras proteínas de la familia de las Transferrinas** tales como la propia transferrina o la ovotransferrina, tampoco lo hacen con ferritina. **A diferencia de la Tf, los receptores para Lf reconocen la forma saturada y la no saturada de la Lf**, aunque su distribución tisular es más restringida en comparación con los receptores de transferrina (TfRs).

Se ha descrito **la unión de Lf a ciertas líneas neoplásicas**, particularmente a líneas **leucémicas** humanas, líneas celulares **eritroides y granulo-monocíticas**. Las células unen Lf independientemente de su estado de saturación con Fe, como se observó en estudios posteriores. **En la línea de células promielocíticas HL-60, estimuladas con un mitógeno para diferenciarse hacia monocitos-macrófagos, se encontró que se incrementa al doble su capacidad de unir Lf con alta afinidad**. En estudios complementarios se determinó que el receptor para Lf tiene un peso molecular (PM) de 120 kDa en la línea de células eritroleucémicas humanas K-562 [42].

Se sugiere que las líneas celulares unen holoLf y la emplean como fuente de Fe para su crecimiento. Sin embargo, reconocen también ApoLf a niveles similares que la forma saturada de Fe, por lo cual es necesario determinar los efectos de la interacción Lf y su receptor en los dos estados fisiológicos esta proteína [43].

También existen receptores para la Lf en linfocitos humanos, debido a las potenciales actividades biológicas de la Lf inducidas en los componentes celulares del sistema inmune adaptativo [44]. La síntesis del receptor ocurre después de la activación mitógena con **fito-hemaglutinina (PHA)**. Esta actividad se describió para holo-Lf, la cual es capaz de sostener la proliferación de Lc T

activados con PHA y crecidos bajo condiciones libres de Fe (sin suero). **Interesantemente, la unión de Lf a los linfocitos T no se afectó por el grado de saturación con Fe.**

Similarmente, las células T con TCR $\gamma\delta$ y $\alpha\beta$, Lc B y células NK, expresaron receptores posterior a su estimulación con activadores policlonales [45]. La caracterización preliminar del receptor para Lf usando Linfocitos T, mostró que está constituido por dos proteínas de 100 y 110 kDa, respectivamente. Se ha descrito la **endocitosis de Lf por los Lc T**, la cual es capaz de estimular la diferenciación de células T a partir de sus precursores inmaduros. **También Lf promueve la polarización de una respuesta Th1 o Th2 de acuerdo al proceso tumoral o infeccioso que se presente [44,46,47].**

Los primeros receptores para Lf en mamíferos se describieron en los macrófagos. Primero se demostró que holoLf se unía a componentes membranales de los macrófagos de ratas, a través de un mecanismo mediado por receptor. **Se sugirió que la holoLf liberaba los átomos férricos en el citosol del fagocito, que se almacenaban por la ferritina como reserva de Fe.** Subsecuentemente se demostró que los monocitos-macrófagos contenían receptores para Lf. De esta manera contribuye a disminuir la concentración de Fe^{+2} libre durante la denominada hipoferremia de la infección en procesos infecciosos e inflamatorios como hemos mencionado anteriormente.

Por otro lado, cuando la Lf es unida a nucleolina superficial, se transloca al núcleo y actúa como regulador positivo para la síntesis de citocinas pro-inflamatorias (IFN- γ , IL-1 β , IL-6 y TNF- α), requeridas para la resolución de los procesos infecciosos [43,48].

En intestino delgado se ha encontrado un receptor específico para Lf en células epiteliales con membrana en forma de borde de cepillo [49,50,51]. Este se ha visto en varias especies de mamíferos tales como conejos, cerdos, mono *rhesus*, ratones y ratas y una similarmente la forma saturada y no saturada

con Fe. Además, la unión óptima de Lf ocurre a un pH de 5.5-6.0. **Los cationes bivalentes, particularmente Ca^{2+} , son requeridos para la unión óptima a las membranas con borde de cepillo** y finalmente se demostró que el receptor es altamente glicosilado y está constituido de una cadena polipeptídica de 130 kDa, con un pl de 5.8-6.0 [52].

La adecuada función de los receptores del intestino delgado requiere la distribución intacta de la Lf a las células epiteliales del tracto gastrointestinal. **En los seres humanos el tracto digestivo de infantes posee un pH relativamente elevado y contiene bajos niveles de secreción enzimática que permiten el tránsito inocuo de la Lf bovina y humana hacia las células epiteliales** [48,49].

En contraste, en los adultos sólo el 60% de la Lf bovina resiste la digestión proteolítica mediada por la pepsina, mientras que la Lf humana es degradada completamente. Sin embargo, la Lf neutrofílica, así como las Lfs derivadas del jugo pancreático y bilis son descargadas en las secreciones exócrinas de las superficies mucosas. De esta manera, **los receptores para la Lf expresados en las células del tracto digestivo interaccionan con la Lf**, la cual presenta actividades biológicas diversas, incluyendo la **facilitación de la absorción de Fe, la modulación de la inmunidad en mucosas y la estimulación de la diferenciación en mucosas** [52,53].

También se han encontrado receptores para Lf en líneas celulares epiteliales SV-40 derivadas de las células no malignas del seno humano, en células de mastopatías benignas, en células HBL-100 transformadas por el oncogen *hst* y en células de carcinoma de seno [54]. La magnitud de la afinidad de la unión se reportó similar en células normales y tumorales. Importantemente, el nivel de unión fue similar al de los linfocitos T activados y se determinó que el receptor de la Lf de las células epiteliales de la glándula mamaria posee determinantes antigénicos comunes con los del receptor de linfocitos activados. Posteriormente **se sugirió que las hormonas que regulan la**

biosíntesis de Lf pueden influir en la expresión de receptores de lactoferrina en células epiteliales normales y malignas de la glándula mamaria, ya que la cantidad del mRNA de lactoferrina es inversamente proporcional al receptor de estrógenos [48,52].

En el hígado los hepatocitos unen Lf a través de una proteína membranal de 45 kDa. En plaquetas también se han encontrado que las no activadas unen Lf de forma específica, saturable y reversible [55]. El receptor plaquetario humano para Lf se purificó y se observó que presenta propiedades inmunológicas y fisicoquímicas similares al receptor de 105 kDa de Linfocitos T activados. Existen datos que han mostrado la **presencia de receptores para Lf en el sistema nervioso central**, sin embargo aún tienen que hacer mas investigaciones para evaluar la posible participación de la Lf en la patogénesis y/o resolución de desórdenes neurodegenerativos, ya que ésta usualmente se acumula en los depósitos amiloides [52,56].

El hecho de que existan proteínas que unen Lf nos hace dar una idea de su multifuncionalidad en el organismo. En la [Figura 1](#) se muestran los sitios de síntesis, las formas de Lactoferrina, sus isoformas y los recetores que se han encontrado en el organismo humano.

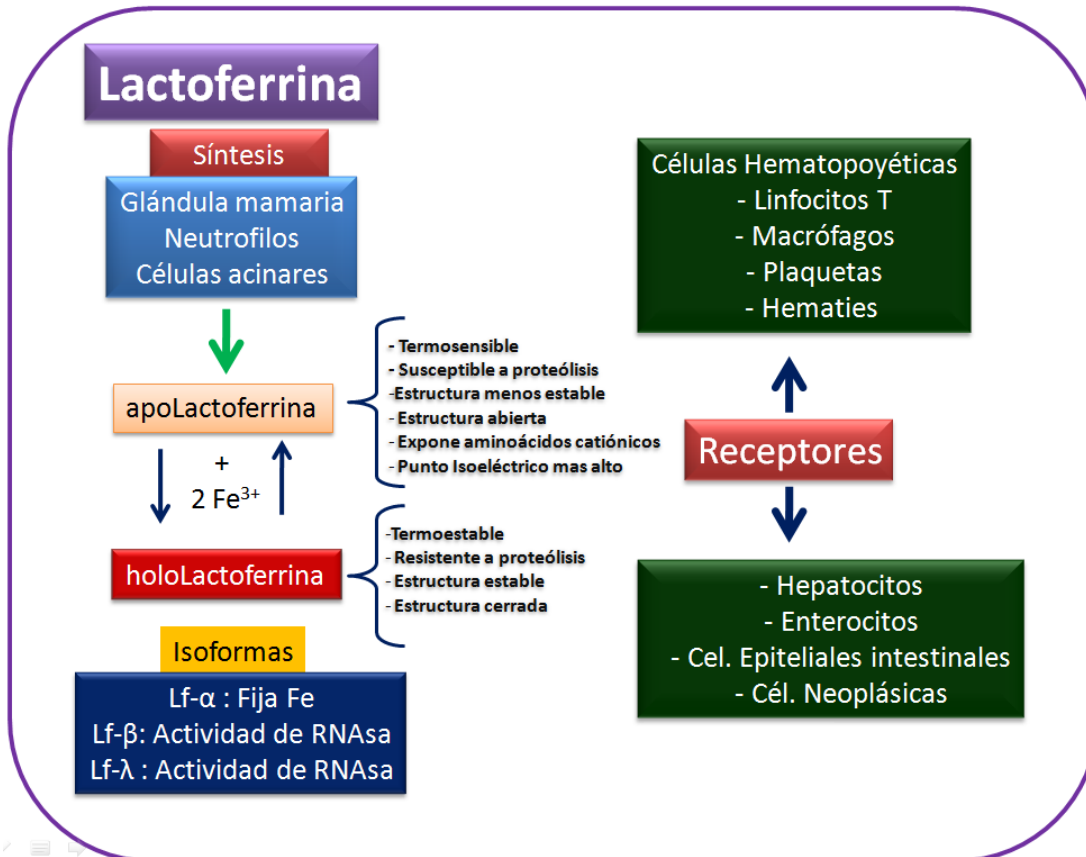


Figura 1. LA LACTOFERRINA SE SINTETIZA EN LA GLÁNDULA MAMARIA, CÉLULAS ACINARES Y EN LOS GRÁNULOS SECUNDARIOS DE LOS NEUTRÓFILOS.

Lactoferrina se libera en forma libre de Fe (ApoLf), tiene una alta afinidad por él y lo secuestra (HoloLf), la proteína sufre un drástico cambio conformacional y sus funciones pueden ser diferentes. En todos los sitios de síntesis se pueden encontrar las tres isoformas de Lf, solamente la isoforma Lf-alfa (α) tiene la capacidad de unir hierro (Fe). El cuerpo humano tiene muchas células que contienen receptores para Lf.

8. Lactoferrina en la respuesta inmune

Lactoferrina es un componente del sistema inmune innato y los estudios hechos en modelos *in vivo* e *in vitro* han mostrado claramente la regulación de la respuesta inmune y los efectos protectores mediados por Lf contra infecciones y choque séptico [57]. Poco se conoce acerca de los modos de acción de Lf como inmunomodulador e inmunoestimulador. Se ha descrito que a nivel celular **Lf modula la migración, maduración y función de las células inmunes** [58].

A nivel molecular, además de su capacidad de unir Fe, controla el estrés oxidativo producido por las células de la respuesta inmune en contra de patógenos y de células transformadas. También se ha documentado la interacción de Lf con un sinnúmero de componentes solubles o moléculas de membranas celulares, interacción responsable de su actividad como inmunomodulador [25, 59]. La Lf puede interactuar con macromoléculas y proteínas tales como ADN, albúmina, lisozima, IgA, etc.

Por poseer un punto isoelectrico alto, **Lf puede ser reconocida por pseudoreceptores y por ello participar en eventos de señalización, inducir, inhibir, potenciar, etc., la acción o funciones de las células del organismo y por esto participar en la respuesta inmune.** En la [Tabla 1](#) se muestran algunas de las funciones inmunológicas donde participa la Lf.

Tabla 1. FUNCIONES INMUNOMODULADORAS Y DE DEFENSA DE LA LACTOFERRINA

Función	Mecanismo propuesto	Ref.
<i>Estimula la adhesión y acumulación de los Neutrófilos en sitios dañados</i>	Reduce la carga de superficie y fuerzas repulsivas en estas células	[60]
<i>Modula la migración, maduración y función de las células presentadoras de antígenos</i>	Desconocido, se postula por liberación de citocinas	[46,47]
<i>Propicia en los granulocitos la interacción célula-célula</i>	Lf se une a la superficie de estas células y reduce sus cargas	[61]
<i>Aumenta o disminuye la producción de radicales libres</i>		[3,62]
a) En ambientes ácidos como el fagolisosoma la Lf propicia la formación de radicales libres	a) Provee Fe	
b) En sitios neutros extracelulares disminuye la producción de radicales libres y con ello previene el daño oxidativo	b) Lf secuestra Fe	
<i>A través de los mecanismos reguladores, afecta los mecanismos de defensa del hospedero</i>		[3,57,60,63]
a) Efectos inhibitorios	a) Mecanismos desconocidos, al parecer depende de la actividad de Lf como proveedor y quelante de Fe.	
- Inhibición de la proliferación de los linfocitos inducida por mitógenos y aloantígenos		
- Bloquea la liberación de histaminas	b) Desconocidos, depende de la saturación o liberación del Fe.	
- Inhibe la síntesis de anticuerpos		
- Controla la actividad monocitos macrófagos		
- Acción anti-complemento		
- Aumenta la citotoxicidad de las células "Natural Killers" y la citotoxicidad de las células "Killers" activadas por linfocinas		
b) Afecta la secreción de citocinas		
- Inhibe la secreción del Factor estimulador de colonias granulocitos/monocitos		
- Inhibe la secreción de citocinas tales como TNF α , IL-1 β , IL-2, en una manera dependiente		

de la concentración y esto lo realiza la Lf parcialmente saturada		
- Afecta la liberación, pero no la función biológica de las citocinas		
- En presencia de LPS, aumenta la producción de IL-1 β , TNF α , IL-6 y de prostaglandinas		
- <i>Puede modificar la respuesta inflamatoria en Lupus Eritematoso Sistémico por unirse al ADN</i>	Interacción de Lf y ADN, y prevención de la unión anti-ADN. Lf dispersa la unión antiADN-ADN	[64]
- <i>Aumenta la autoreactividad de las células T asociada con la artritis inducida por micobacterias</i>	Reactividad cruzada entre la Lf y la proteína micobacteriana de choque térmico de la de 65 kDa	[65]
- <i>La Lf liberada del macrófago aumenta la capacidad fagocítica y la capacidad microbicida en estas células</i>	Los macrófagos ingieren polimorfonucleares ricos en Lf y aumentan su capacidad microbicida	[13, 25]
- <i>Promueve la motilidad y capacidad para formar superóxidos en las células polimorfonucleares</i>	Desconocido, se propone que participan las Lf cargada o no cargada con Fe, y se evita con anti-Lf	[47]
- <i>Potencia la actividad microbicida de péptidos bacteriectinas, péptidos ricos en arginina localizados en los gránulos de los neutrofilos</i>	Acción sinérgica entre la Lf y bacteriectinas, permeabilizan membranas de bacterias con mayor eficiencia	[13,66,67]
- <i>Aumenta la capacidad microbicida de Lf y Lisozima</i>	Desconocido, se ha propuesto depender de la adherencia de la Lf a la membrana	[46,47]
- <i>Activa la vía clásica del complemento</i>		

9. Lactoferrina en el metabolismo del Hierro

Existen importantes hechos que hacen pensar en el **papel de la Lf en la absorción del hierro a nivel intestinal, sobre todo en el recién nacido** y estos son: la **mayor biodisponibilidad del hierro y mayor concentración de Lf en la leche humana, en comparación con la bovina y la de otras especies** [3]. Aún así algunos grupos dedicados al estudio de la Lf consideran estos datos polémicos y controversiales.

Se ha descrito la presencia de un sitio específico de unión para la lactoferrina humana en las microvellosidades de los enterocitos, que podría tener características similares a las de un receptor [68,69,70]. Sin embargo, existen trabajos en los que se ha evidenciado que no existe ningún efecto positivo de la Lf en la absorción del hierro a nivel intestinal e incluso pudiera haber una inhibición de dicha absorción [71, 72]. En este sentido, se ha observado que la

eliminación de la Lf de la leche aumenta la biodisponibilidad del hierro presente [73], por ello, se ha propuesto para la lactoferrina un papel en el control de la absorción de hierro [74]. Así, en el recién nacido, cuyo intestino posee una gran capacidad de absorber hierro, la Lf podría impedir una absorción excesiva. Más adelante, cuando el intestino se va desarrollando y aumentan las necesidades de hierro del niño, la Lf podría liberar el hierro que lleva unido, tras ser degradada por las enzimas digestivas [74].

En los últimos años, se ha descubierto que la Lf humana puede unirse, *in vitro* e *in vivo*, a la ceruloplasmina, la ferroxidasa del suero sanguíneo [75, 76]. Esta unión produce un aumento en la actividad de ferroxidasa de la ceruloplasmina [76]. La Lf y la ceruloplasmina son proteínas de fase aguda y protegen a los tejidos de los daños que los radicales libres que se encuentran en el foco de inflamación pudieran causar [76]. Además, es posible que la afinidad entre las dos proteínas facilite la adquisición del hierro por la apo-Lf en el sitio de inflamación, lo que impide que los microorganismos capturen el hierro que necesitan para crecer [75].

Después de haber captado el hierro, la Lf es internalizada por los macrófagos, donde cede el hierro a la ferritina que lo almacena, siendo la Lf liberada de nuevo al medio extracelular [77,78,79]. Sin embargo, la captación del hierro unido a la Lf por parte de los macrófagos es muy lenta y esta proteína, después de haberse unido a los monocitos, pierde parte de su capacidad de unirse de nuevo a estas células [77]. Se ha propuesto también que Lf desempeña un papel en la inflamación como mediadora en la adhesión de los neutrófilos a los endotelios [80].

La leche humana es especialmente rica en lactoferrina, siendo su concentración en el calostro de unos 7 g/l, permanece elevada a lo largo de toda la lactación, en torno a 1 g/l, y aumenta de nuevo sus niveles al final de lactación alcanzando valores de 20-30 g/l [6]. La evolución a lo largo de la

lactación es similar en la leche bovina, pero en la leche definitiva los niveles son mucho más bajos, en torno a 0.1 g/l [6].

Por ello, las leches para alimentación infantil elaboradas a base de leche de vaca, están desprovistas de Lf y de hecho en algunos países como Japón, a las fórmulas para alimentación infantil se les añade Lf. Por el momento, estas leches se están suplementando con Lf bovina obtenida de **lactosuero**, puesto que la Lf humana no está disponible a gran escala. Aunque todavía no se conoce con suficiente precisión el eventual efecto protector en niños de la Lf obtenida de lactosuero bovino (de distinta especie, y además sometida probablemente a distintos tratamientos térmicos fuera del control del elaborador de alimentos infantiles), es razonable considerar que sería preferible utilizar Lf humana.

10. Sinergia de la Lactoferrina con Quimioterapéuticos y Efectores de la Respuesta Inmune

Se ha demostrado que **lactoferrina actúa en sinergismo con otros componentes del sistema inmune tales como inmunoglobulina A (IgA) y lisozima** en contra de patógenos [66,81]. La acción puede deberse en parte a la **suma de dos diferentes mecanismos de acción; por un lado, el mecanismo de acción de Lf con su naturaleza catiónica, que confiere a la proteína capacidad para unir Fe y para unirse a superficies celulares y moléculas aniónicas [82,83,84] y por otro lado, su actividad de serina-proteasa o inmunomodulador e inmunoestimulador, junto con el mecanismo de acción de los otros componentes**, pueden ser los responsables del efecto sinérgico.

Se ha propuesto que **debido a la interacción de la Lf y los péptidos sobre la membrana de algunas bacterias patógenas, posteriormente ellas quedan más susceptibles al efecto de la lisozima e IgA;** por ello se da el efecto

sinérgico [67,85]. Se ha estudiado también el efecto de Lfcin y tiene la misma función de Lf, pero es más efectiva [86,87]. Algunos estudios han mostrado que dar hierro a la madre lactando no interfiere con la saturación de Lf en la leche. **Parece ser que en los primeros días de la lactación puede también ejercer un papel protector para la propia glándula mamaria.** Estudios recientes han mostrado que los niños amamantados con leche materna tienen concentraciones más altas de IgAs que los niños alimentados con formulas artificiales, por lo que estimula parte de la respuesta inmune [88].

La mayoría de los fármacos antimicrobianos que existen son tóxicos, algunos pueden ser mutagénicos y además los microorganismos pueden desarrollar resistencia a ellos. Se ha propuesto el uso combinado de antibióticos con Lf, con el objetivo de revertir la resistencia a los antibióticos, o bien como potenciador del efecto debido a la acción sinérgica entre ambos [66,89,90].

Los mecanismos de acción de los antibióticos sobre las bacterias pueden ser inhibir la síntesis de proteínas, dañar el DNA, la pared celular, la permeabilidad de la membrana ó modificando su estructura, inclusive inhibiendo alguna enzima. Si a estos efectos le añadimos el de Lf y los péptidos derivados de ella, que de manera directa afectan membranas, pues **se tendrá un efecto más rápido por la suma de dos mecanismos de acción diferentes.** Pero además, posiblemente también sus péptidos son inmuno-moduladores e inmunoestimuladores, por lo tanto, su uso combinado con antibióticos resulta en una terapia muy atractiva [91,92,93,94]. En la [Figura 2](#) se muestran algunas de las diferentes funciones propuestas para Lf.

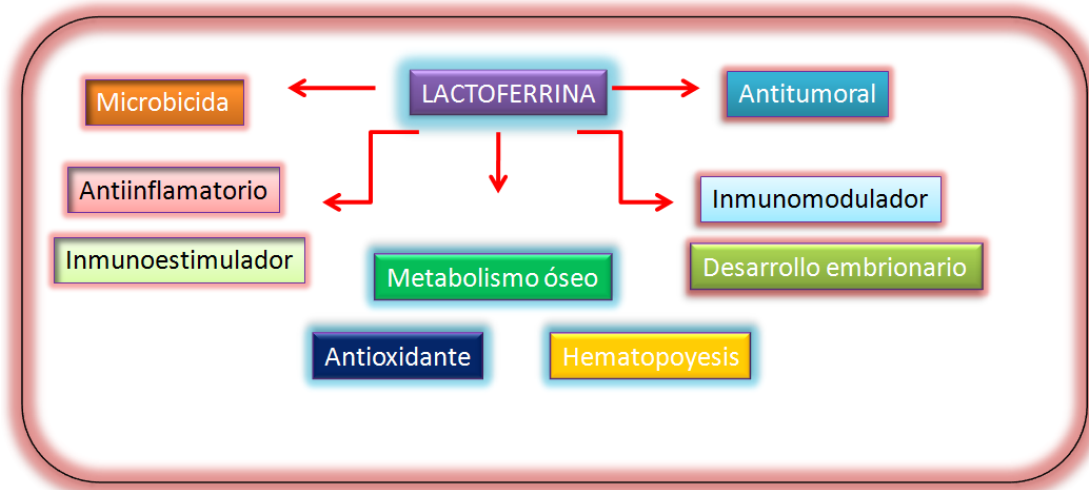


Figura 2. LA PROTEÍNA LACTOFERRINA POSEE FUNCIONES MICROBICIDAS DE AMPLIO ESPECTRO.

Se ha documentado que es bactericida, fungicida, parasiticida y virucida, participa como inmunomodulador e inmunostimulador, se ha descrito su actividad antitumoral antioxidante, y ejerce un papel muy importante en la hematopoyesis, en el desarrollo embrionario, el metabolismo y desarrollo del hueso, por sólo mencionar las funciones mejor investigadas.

11. Aplicaciones de la Lactoferrina y Perspectivas

La lactoferrina se describió a finales de los 30's como una proteína de la leche bovina de función desconocida y se aisló en los 60's, conociéndosele como una proteína de la fracción roja relacionada a Tf. Posteriormente se hicieron investigaciones donde se describían sus funciones y posibles aplicaciones, los resultados promisorios incentivaron el estudio de esta proteína y ello dio la pauta para producirla a gran escala. En la [Figura 3](#) se muestran hechos trascendentales en el campo de investigación de la Lf a través de las décadas.



Figura 3. CRONOLOGÍA DE LOS HECHOS MÁS IMPORTANTES EN EL CAMPO DE INVESTIGACIÓN DE LACTOFERRINA.

Actualmente, los resultados de la ciencia básica se han traducido en estudios clínicos, ya que los resultados *in vitro* corresponden a lo encontrado en seres humanos y en otros mamíferos. **Por ejemplo, en ensayos *in vivo* se ha infectado a ratones con cepas de *Clostridium*, enterobacterias, *Escherichia coli*, *Helicobacter*, *Candida*, virus de la influenza y *Entamoeba histolytica* [95,96,97,98].** Se ha visto que los animales tratados con Lf **pueden resolver las infecciones**, los autores argumentan tanto el efecto de la Lf directamente sobre el patógeno, así como también la inhibición de ellos a sus células blanco.

Además de la actividad microbicida directa y la inhibición de la adhesión de los patógenos a los epitelios del hospedero, en algunos modelos biológicos en animales se ha encontrado que Lf estimula, modula y regula la respuesta inmune. En ratones sometidos a estrés y tratados con agentes quimioterapéuticos para destruir sus células se ha encontrado que

pueden reconstituir su respuesta humoral y celular en poco tiempo después del tratamiento con Lf administrado por la ruta oral [99], en animales infectados con *Staphylococcus aureus*, cuando son tratados con Lf se ha observado que se aumenta la respuesta Th1 [100].

En modelos biológicos creados en animales para investigar el papel de algunos anti-inflamatorios, se encontró que Lf puede actuar como tal [101]. Como profiláctico, se ha encontrado que la Lf reduce la mortalidad en un modelo de co-infección por *Candida* y *Staphylococcus* en un modelo de ratas neonatas [102]. En un modelo de **candidiasis oral**, la Lf estimula la respuesta inmune para la resolución de la infección.

En modelos biológicos de **tumores y carcinomas en animales, al parecer también hay una acción contra las células por parte de la Lf de forma directa [103, 104]**, y se ha sugerido que podría también estimular la respuesta inmune para la resolución de los tumores. En modelos animales de epitelios dañados la Lf participa en la **reparación de los tejidos**, siendo estos de cornea, cicatrización de piel etc. Además, se ha demostrado que participa en la **regeneración del hueso y de articulaciones**.

Se han realizado ensayos clínicos en pacientes, tanto para tratamiento como profilaxis de infecciones y carcinomas. Recientemente se inició la primera evaluación preliminar de una crema que contiene Lf para tratar a mujeres con **vulvovaginitis causada por *Candida albicans* [105]**. También se ha evaluado en un estudio piloto en pacientes de la senectud una pasta dental que entre otros péptidos microbicidas contiene Lf, sin embargo, los resultados no fueron del todo concluyentes abriendo la posibilidad de un nuevo estudio con un mejor diseño [106].

En pacientes con hepatitis C se ha visto que la terapia de interferón con rivavirina y Lf disminuye la viremia y los títulos del ARN del virus, comparado

con los pacientes que no la recibieron [107]. **En pacientes que reciben trasplantes de células madre, susceptibles de infecciones y reacciones inflamatorias se realizó un estudio encontrándose que la Lf tuvo potencial como antimicrobiano y antiinflamatorio [108].**

Se ha evaluado la efectividad de la Talactoferrin- α , una lactoferrina humana recombinante, en ensayos clínicos fase 1 y 2 en pacientes diabéticos que presentan úlceras neuropáticas. Los resultados demostraron que los pacientes mejoraron y que además no se presentó ningún efecto adverso, la proteína fue aplicada tópicamente sobre las úlceras de los pacientes [109]. Esta misma proteína se usó en una cohorte de pacientes con cáncer de riñón metastásico. La Talactoferrina fue bien tolerada, no presentó efectos tóxicos y los pacientes tuvieron una vida más larga y con mejor calidad. Los autores proponen que dado los resultados de este estudio y los preclínicos donde se demuestra la efectividad de la Talactoferrina, es tiempo de que se lleve a cabo un ensayo clínico controlado, aleatorizado, doble ciego y multicéntrico [109,110,111].

Resultados similares se están encontrando al utilizar la Talactoferrina en pacientes con cáncer de cabeza y cuello, además; la Lf bovina se ha evaluado en pacientes con cáncer de colon demostrando quimioprotección y quimiopreención [112]. Otros ensayos clínicos o pilotos que se llevan a cabo es el usar Lf recombinantes para tratar la diarrea en niños, prevenir infecciones en cuneros de servicios de neonatología en hospitales pediátricos, y como coadyuvantes en pacientes con cáncer, diabetes, e infecciones por virus como la Hepatitis C y B, etc.

Seguramente, ya sea como profiláctica o terapéutica, se encontrarán resultados muy promisorios en ensayos clínicos, ya sea usándola en **monoterapia**, o combinada con la **aloterapia** actual. **En una revisión sistemática que evaluó los ensayos clínicos donde se usaba lactoferrina, los**

autores encontraron que aún no se puede concluir con la mejor evidencia que ella funciona o no, ya que los estudios son pocos, sin embargo, conforme se realicen mas investigaciones y ensayos clínicos con mejores diseños se podrá proponer como terapéutico o profiláctico en ciertas patologías.

12. Conclusiones

Aunque falta mucho aún por conocer de la lactoferrina y sus péptidos derivados, no cabe duda de que es una de las proteínas de la respuesta inmune innata que ofrece mejores expectativas de aplicación en clínica como profiláctico y terapéutico de enfermedades infecciosas, inflamatorias, ciertos tipos de cáncer, y como estimulador de la hematopoyesis y del sistema inmunológico. Se tendrá que tener en cuenta el hecho de que puede hacer crecer microorganismos si ésta se usa con Fe., sin embargo, ya se sabe que es la ApoLf la que presenta la mayoría de las funciones benéficas atribuidas a ella. Como proteína natural, es bien tolerada y no presenta complicaciones, y el hecho de que se puede obtener de manera recombinante o sintética abre las expectativas para usarla como aditivo de alimentos y formulas infantiles y otros productos para la salud.

13. Referencias

1. Sorensen M, and Sorensen, S.P.L.: **The proteins in whey.** *CR Trav Lab* 1939, **23**:55-59.
2. Weinberg ED: **The therapeutic potential of lactoferrin.** *Expert Opin Investig Drugs* 2003, **12**(5):841-851. [Pubmed](#)
3. Sanchez L, Calvo M, Brock JH: **Biological role of lactoferrin.** *Arch Dis Child* 1992, **67**(5):657-661. [Pubmed](#)
4. Brock JH: **The physiology of lactoferrin.** *Biochem Cell Biol* 2002, **80**(1):1-6. [Pubmed](#)
5. Masson P, Heremans JF, Prignot J: **Immunohistochemical localization of the iron-binding protein lactoferrin in human bronchial glands.** *Experientia* 1965, **21**(10):604-605. [Pubmed](#)
6. Masson PL, Heremans JF: **Lactoferrin in milk from different species.** *Comp Biochem Physiol B* 1971, **39**(1):119-129. [Pubmed](#)

7. Bullen JJ: **The significance of iron in infection.** *Rev Infect Dis* 1981, **3**(6):1127-1138. [Pubmed](#)
8. Van Snick JL, Masson PL, Heremans JF: **The involvement of lactoferrin in the hyposideremia of acute inflammation.** *J Exp Med* 1974, **140**(4):1068-1084. [Pubmed](#)
9. Baker EN, Anderson BF, Baker HM, Haridas M, Jameson GB, Norris GE, Rumball SV, Smith CA: **Structure, function and flexibility of human lactoferrin.** *Int J Biol Macromol* 1991, **13**(3):122-129. [Pubmed](#)
10. Bullen JJ, Rogers HJ, Griffiths E: **Role of iron in bacterial infection.** *Curr Top Microbiol Immunol* 1978, **80**:1-35. [Pubmed](#)
11. Arnold RR, Russell JE, Champion WJ, Brewer M, Gauthier JJ: **Bactericidal activity of human lactoferrin: differentiation from the stasis of iron deprivation.** *Infect Immun* 1982, **35**(3):792-799. [Pubmed](#)
12. Vorland LH: **Lactoferrin: a multifunctional glycoprotein.** *Apmis* 1999, **107**(11):971-981. [Pubmed](#)
13. Levay PF, Viljoen M: **Lactoferrin: a general review.** *Haematologica* 1995, **80**(3):252-267. [Pubmed](#)
14. Baker EN, Baker HM: **Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin.** *Cell Mol Life Sci* 2005, **62**(22):2531-2539. [Pubmed](#)
15. Iyer S, Lonnerdal B: **Lactoferrin, lactoferrin receptors and iron metabolism.** *Eur J Clin Nutr* 1993, **47**(4):232-241. [Pubmed](#)
16. Bullen JJ, Rogers HJ, Spalding PB, Ward CG: **Iron and infection: the heart of the matter.** *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005, **43**(3):325-330. [Pubmed](#)
17. Aisen P, Leibman A: **Lactoferrin and transferrin: a comparative study.** *Biochim Biophys Acta* 1972, **257**(2):314-323. [Pubmed](#)
18. Baker EN, Baker HM: **A structural framework for understanding the multifunctional character of lactoferrin.** *Biochimie* 2009, **91**(1):3-10. [Pubmed](#)
19. Baker EN: **Lactoferrin and iron: structural and dynamic aspects of binding and release.** *Biomaterials* 2004, **17**(3):209-216. [Pubmed](#)
20. Farnaud S, Evans RW: **Lactoferrin--a multifunctional protein with antimicrobial properties.** *Mol Immunol* 2003, **40**(7):395-405. [Pubmed](#)
21. Furmanski P, Li ZP, Fortuna MB, Swamy CV, Das MR: **Multiple molecular forms of human lactoferrin. Identification of a class of lactoferrins that possess ribonuclease activity and lack iron-binding capacity.** *J Exp Med* 1989, **170**(2):415-429. [Pubmed](#)
22. Furmanski P, Li ZP: **Multiple forms of lactoferrin in normal and leukemic human granulocytes.** *Exp Hematol* 1990, **18**(8):932-935. [Pubmed](#)
23. Kanyshkova TG, Buneva VN, Nevinsky GA: **Lactoferrin and its biological functions.** *Biochemistry (Mosc)* 2001, **66**(1):1-7. [Pubmed](#)
24. van Berkel PH, Geerts ME, van Veen HA, Kooiman PM, Pieper FR, de Boer HA, Nuijens JH: **Glycosylated and unglycosylated human lactoferrins both bind iron and show identical affinities towards human lysozyme and bacterial lipopolysaccharide, but differ in their susceptibilities towards tryptic proteolysis.** *Biochem J* 1995, **312** (Pt 1):107-114. [Pubmed](#)
25. Cavestro GM, Ingegnoli AV, Aragona G, Iori V, Mantovani N, Altavilla N, Dal Bo N, Pilotto A, Bertele A, Franze A *et al*: **Lactoferrin: mechanism of action, clinical**

- significance and therapeutic relevance. *Acta Biomed* 2002, **73**(5-6):71-73. [Pubmed](#)
26. Teng CT: **Lactoferrin gene expression and regulation: an overview.** *Biochem Cell Biol* 2002, **80**(1):7-16. [Pubmed](#)
 27. O'Halloran F, Bahar B, Buckley F, O'Sullivan O, Sweeney T, Giblin L: **Characterisation of single nucleotide polymorphisms identified in the bovine lactoferrin gene sequences across a range of dairy cow breeds.** *Biochimie* 2009, **91**(1):68-75. [Pubmed](#)
 28. Baker EN, Baker HM, Kidd RD: **Lactoferrin and transferrin: functional variations on a common structural framework.** *Biochem Cell Biol* 2002, **80**(1):27-34. [Pubmed](#)
 29. Kang JF, Li XL, Zhou RY, Li LH, Feng FJ, Guo XL: **Bioinformatics analysis of lactoferrin gene for several species.** *Biochem Genet* 2008, **46**(5-6):312-322. [Pubmed](#)
 30. Keijser S, Jager MJ, Dogterom-Ballering HC, Schoonderwoerd DT, de Keizer RJ, Krose CJ, Houwing-Duistermaat JJ, van der Plas MJ, van Dissel JT, Nibbering PH: **Lactoferrin Glu561Asp polymorphism is associated with susceptibility to herpes simplex keratitis.** *Exp Eye Res* 2008, **86**(1):105-109. [Pubmed](#)
 31. Wu YM, Juo SH, Ho YP, Ho KY, Yang YH, Tsai CC: **Association between lactoferrin gene polymorphisms and aggressive periodontitis among Taiwanese patients.** *J Periodontal Res* 2009, **44**(3):418-424. [Pubmed](#)
 32. Moreno-Navarrete JM, Ortega FJ, Bassols J, Castro A, Ricart W, Fernandez-Real JM: **Association of circulating lactoferrin concentration and 2 nonsynonymous LTF gene polymorphisms with dyslipidemia in men depends on glucose-tolerance status.** *Clin Chem* 2008, **54**(2):301-309. [Pubmed](#)
 33. Cabada MM, White AC, Jr.: **Travelers' diarrhea: an update on susceptibility, prevention, and treatment.** *Curr Gastroenterol Rep* 2008, **10**(5):473-479. [Pubmed](#)
 34. Teng CT, Gladwell W: **Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in human lactoferrin gene.** *Biochem Cell Biol* 2006, **84**(3):381-384. [Pubmed](#)
 35. Daly M, Ross P, Giblin L, Buckley F: **Polymorphisms within the lactoferrin gene promoter in various cattle breeds.** *Anim Biotechnol* 2006, **17**(1):33-42. [Pubmed](#)
 36. Arnould VM, Soyeurt H, Gengler N, Colinet FG, Georges MV, Bertozzi C, Portetelle D, Renaville R: **Genetic analysis of lactoferrin content in bovine milk.** *J Dairy Sci* 2009, **92**(5):2151-2158. [Pubmed](#)
 37. Bellamy W, Takase M, Yamauchi K, Wakabayashi H, Kawase K, Tomita M: **Identification of the bactericidal domain of lactoferrin.** *Biochim Biophys Acta* 1992, **1121**(1-2):130-136. [Pubmed](#)
 38. Bellamy W, Takase M, Wakabayashi H, Kawase K, Tomita M: **Antibacterial spectrum of lactoferricin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin.** *J Appl Bacteriol* 1992, **73**(6):472-479. [Pubmed](#)
 39. van der Kraan MI, Groenink J, Nazmi K, Veerman EC, Bolscher JG, Nieuw Amerongen AV: **Lactoferrampin: a novel antimicrobial peptide in the N1-domain of bovine lactoferrin.** *Peptides* 2004, **25**(2):177-183. [Pubmed](#)
 40. van der Kraan MI, Nazmi K, van 't Hof W, Amerongen AV, Veerman EC, Bolscher JG: **Distinct bactericidal activities of bovine lactoferrin peptides LFampin 268-**

- 284 and LFampin 265-284: Asp-Leu-Ile makes a difference.** *Biochem Cell Biol* 2006, **84**(3):358-362. [Pubmed](#)
41. León-Sicairos N: **Bactericidal activity of bovine lactoferrin, LFampin, LFcIn and Chimeric peptide (LFcin-LFampin) against Vibrio parahaemolyticus.** *VIII Conference on Lactoferrin: Structure, Functions and Applications* 2007, **I**(I):33. [Pubmed](#)
 42. Birgens HS, Karle H, Hansen NE, Ostergaard Kristensen L: **Lactoferrin receptors in normal and leukaemic human blood cells.** *Scand J Haematol* 1984, **33**(3):275-280. [Pubmed](#)
 43. Legrand D, Ellass E, Carpentier M, Mazurier J: **Interactions of lactoferrin with cells involved in immune function.** *Biochem Cell Biol* 2006, **84**(3):282-290. [Pubmed](#)
 44. Hammarstrom ML, Mincheva-Nilsson L, Hammarstrom S: **Functional lactoferrin receptors on activated human lymphocytes.** *Adv Exp Med Biol* 1995, **371A**:47-53. [Pubmed](#)
 45. Mincheva-Nilsson L, Hammarstrom S, Hammarstrom ML: **Activated human gamma delta T lymphocytes express functional lactoferrin receptors.** *Scand J Immunol* 1997, **46**(6):609-618. [Pubmed](#)
 46. Legrand D, Ellass E, Pierce A, Mazurier J: **Lactoferrin and host defence: an overview of its immuno-modulating and anti-inflammatory properties.** *Biometals* 2004, **17**(3):225-229. [Pubmed](#)
 47. Legrand D, Ellass E, Carpentier M, Mazurier J: **Lactoferrin: a modulator of immune and inflammatory responses.** *Cell Mol Life Sci* 2005, **62**(22):2549-2559.
 48. Suzuki YA, Lonnerdal B: **Characterization of mammalian receptors for lactoferrin.** *Biochem Cell Biol* 2002, **80**(1):75-80. [Pubmed](#)
 49. Lopez V, Suzuki YA, Lonnerdal B: **Ontogenic changes in lactoferrin receptor and DMT1 in mouse small intestine: implications for iron absorption during early life.** *Biochem Cell Biol* 2006, **84**(3):337-344. [Pubmed](#)
 50. Suzuki YA, Shin K, Lonnerdal B: **Molecular cloning and functional expression of a human intestinal lactoferrin receptor.** *Biochemistry* 2001, **40**(51):15771-15779.
 51. Lonnerdal B: **Lactoferrin receptors in intestinal brush border membranes.** *Adv Exp Med Biol* 1994, **357**:171-175. [Pubmed](#)
 52. Suzuki YA, Lopez V, Lonnerdal B: **Mammalian lactoferrin receptors: structure and function.** *Cell Mol Life Sci* 2005, **62**(22):2560-2575.
 53. Fischer R, Debbabi H, Dubarry M, Boyaka P, Tome D: **Regulation of physiological and pathological Th1 and Th2 responses by lactoferrin.** *Biochem Cell Biol* 2006, **84**(3):303-311. [Pubmed](#)
 54. Penco S, Caligo MA, Cipollini G, Bevilacqua G, Garre C: **Lactoferrin expression in human breast cancer.** *Cancer Biochem Biophys* 1999, **17**(1-2):163-178. [Pubmed](#)
 55. Spik G, Legrand D, Leveugle B, Mazurier J, Mikogami T, Montreuil J, Pierce A, Rochard E: **Characterization of two kinds of lactotransferrin (lactoferrin) receptors on different target cells.** *Adv Exp Med Biol* 1994, **357**:13-19. [Pubmed](#)
 56. Faucheux BA, Nillesse N, Damier P, Spik G, Mouatt-Prigent A, Pierce A, Leveugle B, Kubis N, Hauw JJ, Agid Y *et al*: **Expression of lactoferrin receptors is**

- increased in the mesencephalon of patients with Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995, **92**(21):9603-9607. [Pubmed](#)
57. Baveye S, Ellass E, Mazurier J, Spik G, Legrand D: **Lactoferrin: a multifunctional glycoprotein involved in the modulation of the inflammatory process.** *Clin Chem Lab Med* 1999, **37**(3):281-286. [Pubmed](#)
 58. Lonnerdal B, Iyer S: **Lactoferrin: molecular structure and biological function.** *Annu Rev Nutr* 1995, **15**:93-110. [Pubmed](#)
 59. Orsi N: **The antimicrobial activity of lactoferrin: current status and perspectives.** *Biometals* 2004, **17**(3):189-196. [Pubmed](#)
 60. Birgens HS: **The biological significance of lactoferrin in haematology.** *Scand J Haematol* 1984, **33**(3):225-230. [Pubmed](#)
 61. Boxer LA, Haak RA, Yang HH, Wolach JB, Whitcomb JA, Butterick CJ, Baehner RL: **Membrane-bound lactoferrin alters the surface properties of polymorphonuclear leukocytes.** *J Clin Invest* 1982, **70**(5):1049-1057. [Pubmed](#)
 62. Ambruso DR, Bentwood B, Henson PM, Johnston RB, Jr.: **Oxidative metabolism of cord blood neutrophils: relationship to content and degranulation of cytoplasmic granules.** *Pediatr Res* 1984, **18**(11):1148-1153. [Pubmed](#)
 63. Paulsson MA, Svensson U, Kishore AR, Naidu AS: **Thermal behavior of bovine lactoferrin in water and its relation to bacterial interaction and antibacterial activity.** *J Dairy Sci* 1993, **76**(12):3711-3720. [Pubmed](#)
 64. Bennett RM, Davis J: **Lactoferrin interacts with deoxyribonucleic acid: a preferential reactivity with double-stranded DNA and dissociation of DNA-anti-DNA complexes.** *J Lab Clin Med* 1982, **99**(1):127-138. [Pubmed](#)
 65. Esaguy N, Freire O, Van Embden JD, Aguas AP: **Lactoferrin triggers in vitro proliferation of T cells of Lewis rats submitted to mycobacteria-induced adjuvant arthritis.** *Scand J Immunol* 1993, **38**(2):147-152. [Pubmed](#)
 66. Leon-Sicairos N, Lopez-Soto F, Reyes-Lopez M, Godinez-Vargas D, Ordaz-Pichardo C, de la Garza M: **Amoebicidal activity of milk, apo-lactoferrin, sIgA and lysozyme.** *Clin Med Res* 2006, **4**(2):106-113. [Pubmed](#)
 67. Leitch EC, Willcox MD: **Synergic antistaphylococcal properties of lactoferrin and lysozyme.** *J Med Microbiol* 1998, **47**(9):837-842. [Pubmed](#)
 68. Mazurier J, Montreuil J, Spik G: **Visualization of lactotransferrin brush-border receptors by ligand-blotting.** *Biochim Biophys Acta* 1985, **821**(3):453-460.
 69. Hu WL, Mazurier J, Sawatzki G, Montreuil J, Spik G: **Lactotransferrin receptor of mouse small-intestinal brush border. Binding characteristics of membrane-bound and triton X-100-solubilized forms.** *Biochem J* 1988, **249**(2):435-441.
 70. Kawakami H, Lonnerdal B: **Isolation and function of a receptor for human lactoferrin in human fetal intestinal brush-border membranes.** *Am J Physiol* 1991, **261**(5 Pt 1):G841-846.
 71. Fairweather-Tait SJ, Balmer SE, Scott PH, Minski MJ: **Lactoferrin and iron absorption in newborn infants.** *Pediatr Res* 1987, **22**(6):651-654.
 72. Schulz-Lell G, Dorner K, Oldigs HD, Sievers E, Schaub J: **Iron availability from an infant formula supplemented with bovine lactoferrin.** *Acta Paediatr Scand* 1991, **80**(2):155-158.
 73. Davidsson L, Kastenmayer P, Yuen M, Lonnerdal B, Hurrell RF: **Influence of lactoferrin on iron absorption from human milk in infants.** *Pediatr Res* 1994, **35**(1):117-124.

74. Brock JH: **Lactoferrin in human milk: its role in iron absorption and protection against enteric infection in the newborn infant.** *Arch Dis Child* 1980, **55**(6):417-421.
75. Zakharova ET, Shavlovski MM, Bass MG, Gridasova AA, Pulina MO, De Filippis V, Beltramini M, Di Muro P, Salvato B, Fontana A *et al*: **Interaction of lactoferrin with ceruloplasmin.** *Arch Biochem Biophys* 2000, **374**(2):222-228.
76. Sokolov AV, Pulina MO, Zakharova ET, Shavlovski MM, Vasilyev VB: **Effect of lactoferrin on the ferroxidase activity of ceruloplasmin.** *Biochemistry (Mosc)* 2005, **70**(9):1015-1019.
77. Birgens HS, Kristensen LO: **Impaired receptor binding and decrease in isoelectric point of lactoferrin after interaction with human monocytes.** *Eur J Haematol* 1990, **45**(1):31-35.
78. van Snick JL, Markowitz B, Masson PL: **The ingestion and digestion of human lactoferrin by mouse peritoneal macrophages and the transfer of its iron into ferritin.** *J Exp Med* 1977, **146**(3):817-827.
79. Birgens HS, Kristensen LO, Borregaard N, Karle H, Hansen NE: **Lactoferrin-mediated transfer of iron to intracellular ferritin in human monocytes.** *Eur J Haematol* 1988, **41**(1):52-57.
80. Oseas R, Yang HH, Baehner RL, Boxer LA: **Lactoferrin: a promoter of polymorphonuclear leukocyte adhesiveness.** *Blood* 1981, **57**(5):939-945.
81. Prentice A, Ewing G, Roberts SB, Lucas A, MacCarthy A, Jarjou LM, Whitehead RG: **The nutritional role of breast-milk IgA and lactoferrin.** *Acta Paediatr Scand* 1987, **76**(4):592-598.
82. Pan Y, Wan J, Roginski H, Lee A, Shiell B, Michalski WP, Coventry MJ: **Comparison of the effects of acylation and amidation on the antimicrobial and antiviral properties of lactoferrin.** *Lett Appl Microbiol* 2007, **44**(3):229-234.
83. Leitch EC, Willcox MD: **Elucidation of the antistaphylococcal action of lactoferrin and lysozyme.** *J Med Microbiol* 1999, **48**(9):867-871.
84. Yang N, Strom MB, Mekonnen SM, Svendsen JS, Rekdal O: **The effects of shortening lactoferrin derived peptides against tumour cells, bacteria and normal human cells.** *J Pept Sci* 2004, **10**(1):37-46.
85. Valnes K, Brandtzaeg P, Elgjo K, Stave R: **Specific and nonspecific humoral defense factors in the epithelium of normal and inflamed gastric mucosa. Immunohistochemical localization of immunoglobulins, secretory component, lysozyme, and lactoferrin.** *Gastroenterology* 1984, **86**(3):402-412.
86. Wakabayashi H, Teraguchi S, Tamura Y: **Increased Staphylococcus-killing activity of an antimicrobial peptide, lactoferricin B, with minocycline and monoacylglycerol.** *Biosci Biotechnol Biochem* 2002, **66**(10):2161-2167.
87. Leon-Sicairos N, Reyes-Lopez M, Ordaz-Pichardo C, de la Garza M: **Microbicidal action of lactoferrin and lactoferricin and their synergistic effect with metronidazole in Entamoeba histolytica.** *Biochem Cell Biol* 2006, **84**(3):327-336.
88. Hennart PF, Brasseur DJ, Delogne-Desnoeck JB, Dramaix MM, Robyn CE: **Lysozyme, lactoferrin, and secretory immunoglobulin A content in breast milk: influence of duration of lactation, nutrition status, prolactin status, and parity of mother.** *Am J Clin Nutr* 1991, **53**(1):32-39.

89. Ginsburg I: **Bactericidal cationic peptides can also function as bacteriolysis-inducing agents mimicking beta-lactam antibiotics?; it is enigmatic why this concept is consistently disregarded.** *Med Hypotheses* 2004, **62**(3):367-374.
90. Komine Y, Komine K, Kai K, Itagaki M, Kuroishi T, Aso H, Obara Y, Kumagai K: **Effect of combination therapy with lactoferrin and antibiotics against staphylococcal mastitis on drying cows.** *J Vet Med Sci* 2006, **68**(3):205-211.
91. Caraher EM, Gumulapurapu K, Taggart CC, Murphy P, McClean S, Callaghan M: **The effect of recombinant human lactoferrin on growth and the antibiotic susceptibility of the cystic fibrosis pathogen Burkholderia cepacia complex when cultured planktonically or as biofilms.** *J Antimicrob Chemother* 2007, **60**(3):546-554.
92. Lacasse P, Lauzon K, Diarra MS, Petitclerc D: **Utilization of lactoferrin to fight antibiotic resistant mammary gland pathogens.** *J Anim Sci* 2007.
93. Weber-Dabrowska B, Zimecki M, Kruzel M, Kochanowska I, Lusiak-Szelachowska M: **Alternative therapies in antibiotic-resistant infection.** *Adv Med Sci* 2006, **51**:242-244.
94. Weinberg ED: **Antibiotic properties and applications of lactoferrin.** *Curr Pharm Des* 2007, **13**(8):801-811.
95. Shin K, Wakabayashi H, Yamauchi K, Teraguchi S, Tamura Y, Kurokawa M, Shiraki K: **Effects of orally administered bovine lactoferrin and lactoperoxidase on influenza virus infection in mice.** *J Med Microbiol* 2005, **54**(Pt 8):717-723.
96. Diarra MS, Petitclerc D, Deschenes E, Lessard N, Grondin G, Talbot BG, Lacasse P: **Lactoferrin against Staphylococcus aureus Mastitis. Lactoferrin alone or in combination with penicillin G on bovine polymorphonuclear function and mammary epithelial cells colonisation by Staphylococcus aureus.** *Vet Immunol Immunopathol* 2003, **95**(1-2):33-42.
97. Takakura N, Wakabayashi H, Ishibashi H, Teraguchi S, Tamura Y, Yamaguchi H, Abe S: **Oral lactoferrin treatment of experimental oral candidiasis in mice.** *Antimicrob Agents Chemother* 2003, **47**(8):2619-2623.
98. Teraguchi S, Shin K, Ozawa K, Nakamura S, Fukuwatari Y, Tsuyuki S, Namihira H, Shimamura S: **Bacteriostatic effect of orally administered bovine lactoferrin on proliferation of Clostridium species in the gut of mice fed bovine milk.** *Appl Environ Microbiol* 1995, **61**(2):501-506.
99. Zimecki M, Artym J, Chodaczek G, Kocieba M, Kuryszko J, Houszka M, Kruzel ML: **Immunoregulatory function of lactoferrin in immunosuppressed and autoimmune animals.** *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2007, **61**:283-287.
100. Guillen C, McInnes IB, Vaughan DM, Kommajosyula S, Van Berkel PH, Leung BP, Aguila A, Brock JH: **Enhanced Th1 response to Staphylococcus aureus infection in human lactoferrin-transgenic mice.** *J Immunol* 2002, **168**(8):3950-3957.
101. Chodaczek G, Saavedra-Molina A, Bacsı A, Kruzel ML, Sur S, Boldogh I: **Iron-mediated dismutation of superoxide anion augments antigen-induced allergic inflammation: effect of lactoferrin.** *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2007, **61**:268-276.
102. Venkatesh MP, Pham D, Kong L, Weisman LE: **Prophylaxis with lactoferrin, a novel antimicrobial agent, in a neonatal rat model of coinfection.** *Adv Ther* 2007, **24**(5):941-954.

103. Wolf JS, Li G, Varadhachary A, Petrak K, Schneyer M, Li D, Ongkasuwan J, Zhang X, Taylor RJ, Strome SE *et al*: **Oral lactoferrin results in T cell-dependent tumor inhibition of head and neck squamous cell carcinoma in vivo.** *Clin Cancer Res* 2007, **13**(5):1601-1610.
104. Wolf JS, Li D, Taylor RJ, O'Malley BW, Jr.: **Lactoferrin inhibits growth of malignant tumors of the head and neck.** *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2003, **65**(5):245-249.
105. Costantino D, Guaraldi C: **[Preliminary evaluation of a vaginal cream containing lactoferrin in the treatment of vulvovaginal candidosis].** *Minerva Ginecol* 2008, **60**(2):121-125.
106. Gil-Montoya JA, Guardia-Lopez I, Gonzalez-Moles MA: **Evaluation of the clinical efficacy of a mouthwash and oral gel containing the antimicrobial proteins lactoperoxidase, lysozyme and lactoferrin in elderly patients with dry mouth--a pilot study.** *Gerodontology* 2008, **25**(1):3-9.
107. Kaito M, Iwasa M, Fujita N, Kobayashi Y, Kojima Y, Ikoma J, Imoto I, Adachi Y, Hamano H, Yamauchi K: **Effect of lactoferrin in patients with chronic hepatitis C: combination therapy with interferon and ribavirin.** *J Gastroenterol Hepatol* 2007, **22**(11):1894-1897.
108. van der Velden WJ, Blijlevens NM, Donnelly JP: **The potential role of lactoferrin and derivatives in the management of infectious and inflammatory complications of hematology patients receiving a hematopoietic stem cell transplantation.** *Transpl Infect Dis* 2008, **10**(2):80-89.
109. Lyons TE, Miller MS, Serena T, Sheehan P, Lavery L, Kirsner RS, Armstrong DG, Reese A, Yankee EW, Veves A: **Talactoferrin alfa, a recombinant human lactoferrin promotes healing of diabetic neuropathic ulcers: a phase 1/2 clinical study.** *Am J Surg* 2007, **193**(1):49-54.
110. Jonasch E, Stadler WM, Bukowski RM, Hayes TG, Varadhachary A, Malik R, Figlin RA, Srinivas S: **Phase 2 trial of talactoferrin in previously treated patients with metastatic renal cell carcinoma.** *Cancer* 2008, **113**(1):72-77.
111. Hayes TG, Falchook GF, Varadhachary GR, Smith DP, Davis LD, Dhingra HM, Hayes BP, Varadhachary A: **Phase I trial of oral talactoferrin alfa in refractory solid tumors.** *Invest New Drugs* 2006, **24**(3):233-240.
112. Tsuda H, Sekine K, Fujita K, Ligo M: **Cancer prevention by bovine lactoferrin and underlying mechanisms--a review of experimental and clinical studies.** *Biochem Cell Biol* 2002, **80**(1):131-136.