

## Revista Latinoamericana de Microbiología

Volumen 47  
Volume

Número 3-4  
Number

Julio-Diciembre 2005  
July-December

*Artículo:*

### Actividad antimicrobiana de la lactoferrina: Mecanismos y aplicaciones clínicas potenciales

Derechos reservados, Copyright © 2005:  
Asociación Mexicana de Microbiología, AC

Otras secciones de  
este sitio:

- 📖 Índice de este número
- 📖 Más revistas
- 📖 Búsqueda

*Others sections in  
this web site:*

- 📖 *Contents of this number*
- 📖 *More journals*
- 📖 *Search*

# Actividad antimicrobiana de la lactoferrina: Mecanismos y aplicaciones clínicas potenciales

Dora Alicia Rodríguez-Franco,\* Luz Vázquez-Moreno,\* Gabriela Ramos-Clamont Montfort\*

Vol. 47, Nos. 3-4  
 Julio - Septiembre. 2005  
 Octubre - Diciembre. 2005  
 pp. 102 - 111

**RESUMEN.** La lactoferrina (Lf) es una glicoproteína multifuncional que presenta la capacidad de unir hierro. Una de las funciones primordiales de la Lf es el transporte de metales. También actúa como proteína de defensa no específica. La Lf se encuentra en diversas secreciones mucosas como la leche, las lágrimas y la saliva. También es un componente abundante de los neutrófilos y puede ser liberada al plasma sanguíneo por la acción de éstos. Las lactoferrinas humana y bovina, despliegan un amplio espectro antimicrobiano, actuando contra bacterias Gram positivas y Gram negativas y contra algunos virus y hongos. Inicialmente se pensó que esta actividad antimicrobiana se debía únicamente a su capacidad de secuestrar hierro. En la actualidad, se sabe que existen diversos mecanismos que contribuyen a la capacidad de esta glicoproteína, para defender a los mamíferos de las infecciones microbianas. Esta revisión presenta un panorama del conocimiento actual acerca de dichos mecanismos y de las aplicaciones clínicas potenciales de la Lf, contra infecciones microbianas.

**Palabras clave:** Lactoferrina, mecanismos de defensa antibacteriana, antiviral, lactoferricina, aplicaciones clínicas.

**ABSTRACT.** Lactoferrin (Lf) is an iron binding multifunctional glycoprotein that is present in several mucosal secretions like milk, tears and saliva. Lf is also an abundant component of the specific granules of neutrophils and can be released into the serum upon neutrophil degranulation. One of the functions of this protein is the transport of metals, but it is also an important component of the non-specific immune system. Human and bovine Lfs display a broad antimicrobial spectrum against Gram positive and Gram negative bacteria, fungi and several viruses. While the iron-binding properties were originally believed to be solely responsible for the host defense properties ascribed to lactoferrin, it is now known that other mechanisms contribute to the antimicrobial role of this glycoprotein. This review gives an overview of the knowledge of these mechanisms and the potential clinical applications of Lf against infections

**Key words:** Lactoferrin, host defense, antibacterial, antiviral, lactoferricin, clinical applications.

## INTRODUCCIÓN

La lactoferrina (Lf) es una glicoproteína de 80 KDa, producida por las células epiteliales de las mucosas de los mamíferos. Perteneció a la familia de las proteínas transportadoras de hierro, denominadas transferrinas.<sup>56,58</sup> La Lf presenta una alta homología entre especies, localizándose en secreciones mucosas como lágrimas, saliva, fluidos seminales y vaginales.<sup>8,56,58,62</sup> Sin embargo, es en la leche y particularmente en su calostro, donde se encuentra en mayor concentración (7 g/L en calostro humano).<sup>41,43</sup> La lactoferrina se encuentra también en los neutrófilos y en pequeñas cantidades en el plasma sanguíneo (0.2 µg/L).<sup>10</sup> Se piensa que la Lf plasmática tiene dos orígenes, el primero es la liberación por parte de los neutrófilos, en respuesta al ataque microbiano.<sup>4,14</sup> Por otro lado, la Lf que ha cumplido su vida media, es transportada a través de la sangre y hacia el hígado, donde es reconocida por receptores específicos que la retiran de la circulación.<sup>4,14,108</sup>

La molécula de Lf (Fig. 1), está integrada por una cadena polipeptídica simple, plegada en dos lóbulos globulares simétricos (lóbulos N y C) conectados por una región bisagra.<sup>2,109</sup> Cada lóbulo es capaz de unir un átomo de Fe<sup>+2</sup> o Fe<sup>+3</sup>, aunque también puede unirse a iones Cu<sup>+2</sup>, Zn<sup>+2</sup> y Mn<sup>+2</sup>.<sup>56,58</sup> Esta glicoproteína presenta una carga neta positiva con un punto isoeléctrico (pI), entre 8.0 y 8.5 y 4 sitios potenciales de N-glicosilación.<sup>45,56</sup> Muchos científicos han estado intrigados sobre la función de la lactoferrina, desde su descubrimiento en las leches bovina,<sup>89</sup> y humana.<sup>49</sup> Inicialmente se pensó que actuaba únicamente como transportador de metales esenciales en el recién nacido.<sup>17,56,58,75</sup> Posteriormente se comprobó que la Lf es un componente importante del sistema inmune innato, que exhibe propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas y antivirales, entre otras.<sup>56,58,70,109</sup>

## ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

La actividad antimicrobiana de la Lf se ejerce sobre un amplio espectro de patógenos, incluidos hongos, bacterias y virus.<sup>56,103</sup> Ello se debe a que esta molécula, se encuentra estratégicamente situada en las mucosas de los mamíferos, donde actúa como primera línea de defensa.<sup>58</sup> El efecto de la Lf contra bacterias patógenas, ha sido ampliamente documentado *in*

\* Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Coordinación de Ciencia de los Alimentos.

*vitro* e *in vivo*.<sup>56,58</sup> Esta glicoproteína inhibe el crecimiento, tanto de bacterias Gram negativas como Gram positivas, entre ellas, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus stearothermophilus* y *Bacillus subtilis*.<sup>68,69</sup> También presenta efecto bactericida y bacteriostático *in vivo* y en modelos animales contra múltiples cepas de *Helicobacter pylori*.<sup>29-31</sup> Es importante destacar que la Lf también actúa sobre cepas resistentes a antibióticos de *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae* y de *Staphylococcus aureus* resistente a metacilina.<sup>11,56,58,69</sup>

Aunque la mayoría de las investigaciones se han realizado con lactoferrinas (Lfs) humana y bovina, muchos de los resultados pueden aplicarse a Lfs de otras especies. Lo anterior se debe a la alta homología que existe entre sus estructuras.<sup>56,58,62</sup> Sin embargo, se ha observado que las Lfs de otras especies pueden exhibir diferentes efectos. Por ejemplo, algunos estudios *in vitro*, revelan que las lactoferrinas de cabra y oveja tienen mayor actividad antibacteriana que la Lf de vaca.<sup>50,76</sup> La molécula de lactoferrina protege a los mamíferos de las infecciones bacterianas mediante mecanismos directos e indirectos. Los primeros comprenden a las actividades bacteriostáticas y bactericidas, mientras que los mecanismos indirectos se basan en la prevención de la adherencia de los patógenos a las células eucariotas y en la modulación del sistema inmune.<sup>114</sup>

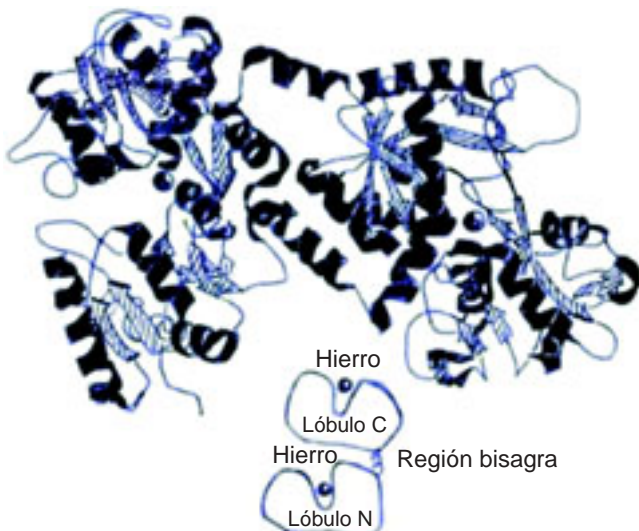
La función bacteriostática se debe a la capacidad de la Lf para ligar iones Fe.<sup>114</sup> Ya que la molécula se encuentra principalmente como apolactoferrina (forma libre de hie-

rrero) en las secreciones, tiene la capacidad de secuestrar este metal en los sitios de infección. De esta manera priva de un nutriente esencial a las bacterias inhibiendo su crecimiento.<sup>10,18,19,68</sup> Sin embargo, la bacteriostasis es únicamente una medida que produce un efecto antimicrobiano temporal y muchas bacterias han desarrollado mecanismos para recuperar el Fe secuestrado por la Lf. Este es el caso de algunas bacterias Gram negativas, las cuales sintetizan pequeñas moléculas quelantes conocidas como sideróforos.<sup>26</sup> Otros organismos como los del género *Neisseria*, son a su vez capaces de expresar receptores membranales específicos para la Lf, internalizando en sus células el hierro unido a la proteína.<sup>57,86</sup>

La capacidad bactericida de la Lf se atribuye a la interacción directa de la molécula o parte de ella, con las superficies bacterianas.<sup>98</sup> Esta interacción se ha observado tanto en bacterias Gram positivas como en Gram negativas. Los estudios con bacterias Gram positivas como *Streptococcus mutans*, *Micrococcus* sp y *Clostridium* sp, muestran que, tanto la Lf humana, como la bovina, son capaces de unirse a las superficies bacterianas, gracias a su carga positiva.<sup>98,99</sup> Sin embargo, se requieren más estudios para saber cómo afecta esta unión a las bacterias.

En bacterias Gram negativas como *Vibrio cholerae* y *E. coli*, se ha detectado la interacción de la Lf con la superficie bacteriana, seguida de la liberación de lipopolisacárido (LPS), el aumento en la permeabilidad de la membrana y la liberación del contenido citoplasmático de la bacteria.<sup>32,114,115</sup> El LPS es el componente endotóxico de la pared celular de las bacterias Gram negativas, que se adhiere a receptores de la célula hospedera, como uno de los primeros pasos para la infección.<sup>80</sup> De allí que una de las principales estrategias para prevenir la unión de LPS a las células eucariotas, sea la búsqueda de compuestos con capacidad de alterar esta estructura. Este es el caso de varios péptidos catiónicos o policatiónicos antibacterianos, como la polimixina B, las defensinas, las magaininas, las cecropinas, y la indolicidina.<sup>23,65,91,114</sup> Cuando estos agentes interactúan con la región aniónica del LPS, desestabilizan la unión de esta molécula con cationes presentes en la superficie bacteriana, provocando su liberación. También ocurren alteraciones en la conformación y en la permeabilidad de la pared y de la membrana citoplasmática bacteriana.<sup>14,15,27,61,72,83</sup>

Varios estudios han demostrado que existe interacción entre la Lf y el LPS.<sup>16,23,24,32,33,64</sup> Sin embargo, no se ha podido cuantificar esta interacción mediante la constante de disociación (Kd), debido a que el LPS existe como una mezcla de moléculas de tamaño variable y a que forma agregados en solución.<sup>16</sup> No obstante, esta interacción da soporte a la idea de que la Lf puede dañar a la superficie celular de las bacterias Gram-negativas actuando de mane-



**Figura 1.** Molécula de lactoferrina. La molécula de lactoferrina está conformada por una cadena polipeptídica simple plegada en dos lóbulos globulares simétricos (lóbulos N y C) conectados por una región bisagra. Cada lóbulo es capaz de unir un átomo de  $Fe^{2+}$  o  $Fe^{3+}$ .

ra similar a las defensinas y a los otros péptidos catiónicos. Se cree que el extremo N terminal de la Lf, cargado positivamente, interrumpe la interacción entre el LPS y los cationes bacterianos ( $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ ). Esta acción induce la liberación de LPS de la pared celular por lo que algunos fosfolípidos de la membrana interna de la bacteria, ocupan el lugar del LPS para impedir la alteración de la superficie como se muestra en la Figura 2. Estos cambios provocan a su vez un aumento en la permeabilidad de la membrana con el consecuente daño a la bacteria. Este aumento en la permeabilidad también facilita el ataque de otras proteínas de defensa hacia la bacteria; la lisozima y las inmunoglobulinas, son moléculas que han mostrado tener un efecto sinérgico con la lactoferrina.<sup>13,33,77,82,84,90</sup>

En 1992, Bellamy *et al.*<sup>5,6</sup> identificaron una porción de aminoácidos del extremo aminoterminal de la Lf, que retiene su actividad biológica cuando se aísla del resto de la molécula. Esta porción denominada lactoferricina (Lfc), presenta una alta homología entre las diferentes especies de mamíferos (Tabla 1). La lactoferricina se libera de manera natural en el organismo, debido a la acción de la pepsina gástrica. Se ha demostrado que este péptido se une al LPS a través de algunos de sus aminoácidos catiónicos.<sup>5,6,98</sup> Es importante hacer notar que la actividad antimicrobiana de la Lfc es mayor que la de la molécula nativa de Lf.<sup>5,6,15,97,114</sup> También se ha observado un aumento de la actividad antimicrobiana, al modificar químicamente a los péptidos de lactoferrina, aumentando sus cargas positivas.<sup>59</sup> Es probable que la lactoferricina tenga un efecto bactericida mayor que el de la Lf, debido a su tamaño, ya que al ser más pequeña que ésta, no presentará un efecto estérico sobre la superficie bacteriana, pudiendo

introducirse fácilmente, actuando directamente sobre la membrana interna (Fig. 2).

La secuencia de la Lf con actividad antibacteriana, está constituida por los aminoácidos 1–47 de la Lf humana (Lfh) y 17–41 de la Lf bovina (Lfb).<sup>98</sup> Se han llevado a cabo estudios *in vivo* e *in vitro* con péptidos sintéticos que indican, que la actividad antimicrobiana de la Lfh, se debe a la presencia de 4 argininas cargadas positivamente, localizadas entre los aminoácidos 1 y 5 de su extremo N terminal.<sup>32,69,104</sup> No obstante, se desconoce qué otras ventajas funcionales pudieran tener la liberación de este péptido en el estómago (por acción de la pepsina), en comparación con la molécula de Lf entera.<sup>114</sup>

Además de sus propiedades biocidas y bioestáticas, la Lf puede prevenir la adhesión o internalización de las bacterias a células eucariotas.<sup>58</sup> En este sentido se ha observado que la Lf presenta actividad de serina proteasa, la cual ataca específicamente a las proteínas de membrana de *Haemophilus influenzae* involucradas en la adherencia de esta bacteria a la célula hospedera.<sup>106,109</sup> Otra estrategia de la Lf es la de competir por los sitios de unión de moléculas que sirven de receptores al patógeno, como los glicosaminoglicanos.<sup>88,98,114</sup> Adicionalmente, algunos estudios indican que los oligosacáridos de la Lf pueden a su vez actuar como receptores de las adhesinas de los patógenos, previniendo así la invasión microbiana.<sup>117</sup>

## ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

La Lf también ejerce una acción protectora contra hongos y levaduras. Los primeros estudios al respecto se reali-

**Tabla 1.** Homología entre la secuencia de aminoácidos de lactoferrinas de diferentes especies.

Especie	Secuencia N terminal	Posición
Búfalo	LKCHRWQWRMCKLGLAPSITCVRRFAV	17-42
	SQPEWLKCHRWQWRMCKLGLAPSITCVRRFAV—LECIRA	12-48
Vaca	FKCRRWQWRMCKLGLAPSITCVRRFA	17-42
	SQPEWFKCRRWQWRMCKLGLAPSITCVRRFA—LECIRA	12-48
Camello	SKCAQWQRRMCKVGRPSVTCKKTSR	17-42
	SPAESSKCAQWQRRMCKVGRPSVTCKKTSR—FECIQA	12-48
Cabra	SKCYQWQRRMRKLGAPSITCVRR TSA	17-42
	VLPEWSKCYQWQRRMRKLGAPSITCVRR TSA—LECIRA	12-48
Humano	TKCFQWQRNMCKVGRPPVSCIKRDSP	17-42
	SQPEATKCFQWQRNMCKVGRPPVSCIKRDSP—IQCIQA	12-48
Ratón	EKCLRWNEMRCKVGGPPLSCVKKSS	17-42
	SNSEEEKCLRWNEMRCKVGGPPLSCVKKSS—RQCIQA	12-48
Cerdo	SKCRQWQSKIRRTN-PIF-CIRRASP	19-42
	STAEYSKCRQWQSKIRRTN-PIF-CIRRASP—TDCIRA	14-48
Caballo	AKCAKFQRNMCKVGRPSVSCIRKTSS	17-42
	SPAEEAKCAKFQRNMCKVGRPSVSCIRKTSS—FECIQA	12-48

zaron con el género *Candida* spp. por Kirkpatrick *et al.*<sup>52</sup> quienes, junto con otros investigadores, atribuyeron el efecto antifúngico de la Lf, a su capacidad de secuestrar Fe.<sup>19,20,78,79</sup> Posteriormente se observó que la apolactoferrina es capaz de eliminar tanto a *C. albicans* como a *C. krusei*, alterando la permeabilidad de su superficie celular, de manera similar a como ocurre en las bacterias. En estos casos también se observó un mayor efecto al utilizar a la lactoferricina, por lo que se piensa que el mecanismo de acción es similar al que ocurre en las superficies bacterianas.<sup>7</sup>

La infección por *Candida* spp en las mucosas de personas con VIH, es muy frecuente.<sup>54</sup> En un principio se trató con antifúngicos derivados de los polienos como la anfotericina B y la nistatina. Debido a que estos medicamentos presentan varios efectos adversos, se optó por azoles como el fluconazol, el ketoconazol y el clomitrazol. Sin embargo, su amplio uso, ha provocado un aumento de resistencia en *Candida* spp hacia estos compuestos, reduciendo su actividad. Es por ello que en la actualidad, existe el interés por combinar la acción de la Lf, con estos medicamentos, con el fin de encontrar un efecto sinérgico y de reducir las dosis de medicamento. Se ha observado que el mejor efecto se obtiene al combinar Lf (1 mg/ml) y concentraciones mínimas efectivas de fluconazol; en estas condiciones se observa la completa inhibición de diversas especies de *Candida*.<sup>54,94</sup>

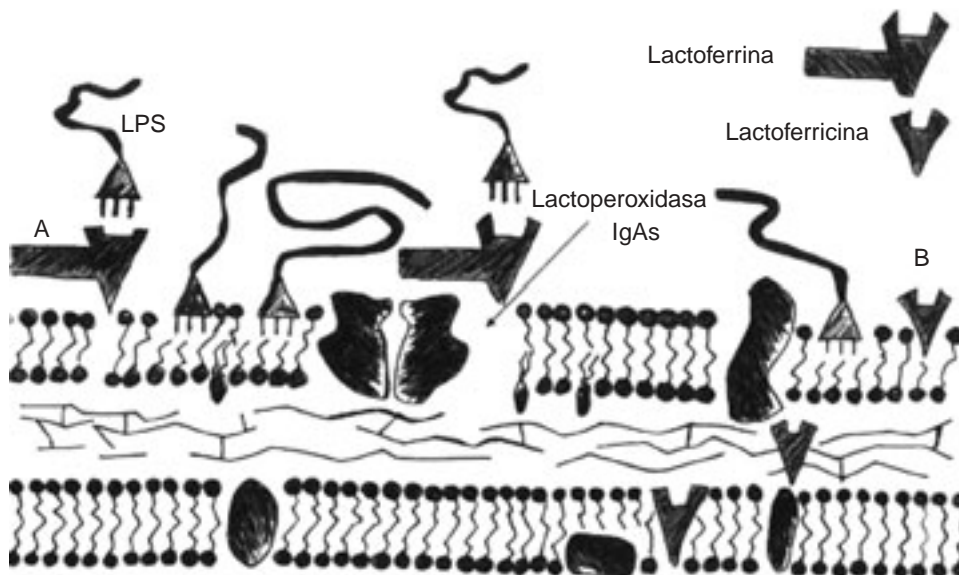
También se ha reportado un efecto sinérgico entre la Lf y clomitrazol por Wakabayashi *et al.*<sup>111</sup> Ellos demostraron que 200 µg/ml de Lf, pueden eliminar completamente el crecimiento de *Candida* durante un periodo de incubación de 17 h, mientras que con la adición de 3 a 12 ng/ml de clomitrazol, únicamente se requirieron de 50 a 100 µg/ml de Lf. Los autores atribuyen el sinergismo de estos

compuestos a la capacidad del clomitrazol de interferir en la síntesis de la membrana plasmática en conjunto con la acción de la Lf sobre la permeabilidad de la membrana. Lo anterior abre diversas posibilidades de uso para la Lf en la industria farmacéutica, ya que en la actualidad se ensayan diferentes estrategias para utilizar a la lactoferrina y a otras moléculas con actividad biológica, como acarreadores de antibióticos con los que presentan sinergia. De esta manera, se podría dirigir al antibiótico hacia el sitio de infección, lo que permitiría el uso de cantidades menores del mismo sin el peligro de inducir resistencia microbiana.<sup>54</sup>

El efecto de la Lf sobre otros sitios diferentes a las mucosas, se observó al administrarla por vía oral a cobayos infectados con *Trichophyton mentagrophytes* (hongo causante de la tiña), observándose una mejora significativa de las lesiones causadas por el hongo en lugares muy distantes al tracto gastrointestinal.<sup>111,112</sup> Una posibilidad que explique este efecto es que la lactoferrina o la lactoferricina generada a partir de ésta, por la acción de las enzimas digestivas, sean absorbidas en el intestino, dirigiéndose hacia el sitio de infección a través del torrente sanguíneo, sin embargo se requieren más estudios para probarlo. Otros autores indican que la acción de la Lf administrada por vía oral se debe a su efecto inmunomodulador, ya que, existe evidencia de que la Lf aumenta la actividad fagocítica de los neutrófilos sanguíneos, la actividad de las células NK, el número de células progenitoras de neutrófilos en la sangre y la producción de gamma interferón.<sup>67,85,87,119</sup>

## ACTIVIDAD ANTIVIRAL

La actividad antiviral de la Lf se ha observado contra virus del Herpes Simplex 1 y 2,<sup>39</sup> adenovirus,<sup>3</sup> virus del



**Figura 2.** Modelo del mecanismo de la acción antimicrobiana de la lactoferrina (A) y la lactoferricina (B) en la superficie celular de las bacterias Gram negativas. La lactoferrina y la lactoferricina se unen a la pared celular causando la liberación del lipopolisacárido y alterando su permeabilidad. Esta alteración facilita la acción de la lactoperoxidasa y otras proteínas de defensa, sobre la bacteria. La lactoferrina queda unida a la pared celular, mientras la lactoferricina, de menor tamaño, puede penetrar hasta la membrana, provocando un mayor daño en el microorganismo. Modificado de Yamauchi *et al.*<sup>115</sup>



VIH,<sup>38,74,94,108</sup> virus de la hepatitis C,<sup>97,98</sup> citomegalovirus,<sup>38,94,95</sup> virus de la polio,<sup>60</sup> hantavirus,<sup>66</sup> rotavirus (en líneas de cultivo),<sup>93</sup> virus respiratorio sincicial,<sup>37</sup> calicivirus felino,<sup>1</sup> y virus de inmunodeficiencia felina,<sup>85</sup> entre otros. La mayoría de estos estudios sugieren que la Lf inhibe la entrada del virus a la célula hospedera más que actuar sobre su replicación (Fig. 3).

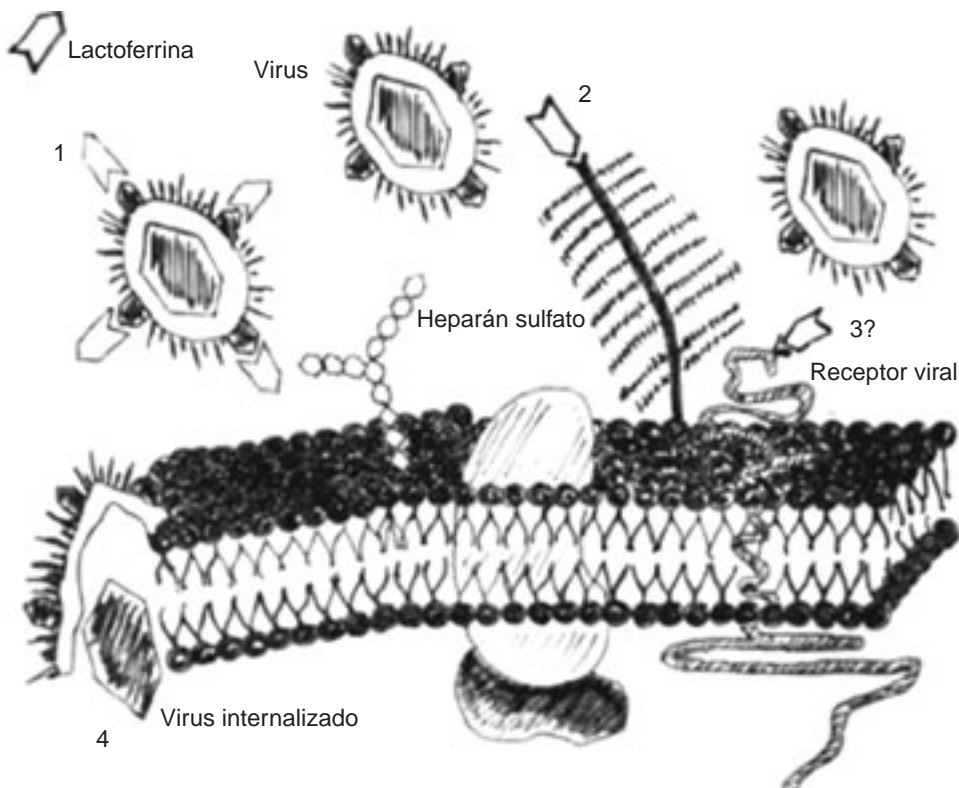
La primera estrategia de la Lf para lograrlo es la de unirse a la partícula viral, impidiendo que se adhiera a la célula. Este es el caso del virus de la hepatitis C, en el que la Lf se une a proteínas E1 y E2 de su envoltura. Los experimentos demuestran que en este caso, se requiere de la molécula entera de Lf, en su conformación nativa, para que el efecto ocurra.<sup>116</sup> Este mismo mecanismo también se presenta contra el rotavirus.<sup>93</sup> Existen otros virus en los que la actividad de la Lf se atribuye en parte a su unión con algunas proteínas de la envoltura viral y en parte al bloqueo de receptores celulares. Tal es el caso de los virus del herpes, el adenovirus y el virus del VIH.<sup>39,73,93</sup> Se ha observado que la Lf es capaz de unirse al dominio GPGRF de la glicoproteína gp 120 de la cápsula del virus del VIH y a los polipéptidos III y IIIa de la envoltura del adenovirus.<sup>63,73</sup>

Un segundo mecanismo consiste en bloquear moléculas de la superficie celular, que el virus reconoce como receptores o co-receptores.<sup>63,107</sup> Una de las hipótesis más acepta-

das es que la Lf bloquea los receptores virales del tipo glicosaminoglicanos, especialmente al heparán sulfato (HS).<sup>34,107</sup> Existen numerosos estudios que indican que virus de diferentes familias interactúan con el HS, como primer paso en su adhesión a la célula hospedera. Entre ellos se incluyen al virus Sindbis,<sup>21,53</sup> al virus de la encefalitis equina venezolana,<sup>9</sup> al virus del Río Ross,<sup>40</sup> al virus de la hepatitis C,<sup>35</sup> al adenovirus-asociado tipo 2,<sup>92</sup> al virus de la enfermedad de la fiebre aftosa en ungulados,<sup>48</sup> a los virus herpes,<sup>12,25,88,102</sup> al virus del HIV,<sup>71</sup> a los ecovirus,<sup>36</sup> y al virus del dengue.<sup>22,42</sup> Esta habilidad de los virus para interactuar con el HS se ha observado en estudios con diversas líneas celulares y en virus aislados clínicamente como el virus del Herpes simplex tipo 1 y ecovirus.<sup>36, 102,110</sup>

Una vez establecido el primer reconocimiento hacia el heparán sulfato, los virus pueden desplazarse a través de la membrana celular y reconocer específicamente a otros receptores, permitiendo su internalización a la célula.

Otros autores han hipotetizado sobre la posibilidad de que la lactoferrina también sea capaz de bloquear a estos receptores, sin embargo se requiere de más estudios para comprobarlo.<sup>107</sup> La unión de Lf con HS, previene el primer contacto y en consecuencia, la posterior infección de la célula. La carga neta positiva de la Lf es la responsable de su interacción con el HS.<sup>104,106</sup> Estudios con lactoferrinas mo-



**Figura 3.** Modelo del mecanismo de acción de la lactoferrina contra los virus. La lactoferrina (Lf) ejerce su acción por competencia sobre los virus, impidiendo su internalización en la célula eucariota. 1) La Lf se une a proteínas de la cápsula viral. 2) La Lf se une al heparán sulfato. 3) La Lf también puede unirse a los receptores específicos de algunos virus. 4) Si el virus logra entrar a la célula, la Lf activa mecanismos que contribuyen a la respuesta inmune. Modificado de Waarts et al.<sup>110</sup>

dificadas químicamente para aumentar el número y distribución de cargas eléctricas positivas, muestran un aumento significativo de la actividad antiviral de la Lf contra el virus del VIH.<sup>95</sup> La lactoferrina también interacciona con el HS, lo cual podría representar una ventaja en los tratamientos orales con Lf, ya que este péptido es liberado por la acción de las enzimas digestivas.

El Fe u otros metales unidos a la Lf parecen no tener relación con su actividad antiviral.<sup>94</sup> De hecho, parte de los estudios con diferentes virus muestran que la apolactoferrina es más efectiva que la forma saturada de hierro de la Lf (hololactoferrina). Sin embargo, en el caso del virus de la polio, la Lf saturada con Zn<sup>+2</sup> produce un mayor efecto que la apolactoferrina. Lo anterior puede deberse a que el Zn<sup>+2</sup> es tóxico para dicho virus.<sup>60</sup>

Otros estudios muestran que la Lf es capaz de modular al sistema inmune de los mamíferos presentando una actividad antiviral y antibacteriana indirecta. La Lf mantiene una estrecha interacción con neutrófilos, linfocitos, macrófagos y sus productos, los cuales juegan un papel de protección importante durante las primeras etapas de la infección.<sup>18,107</sup>

#### APLICACIONES CLÍNICAS POTENCIALES DE LA LACTOFERRINA

La potencialidad de la Lf en aplicaciones biológicas, farmacológicas y nutraceuticas, ha atraído la atención de los científicos, debido a su amplia gama de efectos biológicos, incluyendo su uso como inmunomodulador y anticancerígeno.<sup>46,99,101</sup> Diversos estudios muestran que no existe diferencia entre la actividad antibacteriana de la lactoferrina humana (Lfh) y la lactoferrina bovina (Lfb). Es por ello que la principal fuente comercial de Lf es la leche bovina.

En la actualidad, la Lf es aislada y purificada a escala industrial a partir del suero de queso y de leche desnatada; la purificación se realiza mediante el uso de resinas de intercambio iónico, posteriormente la fracción Lf se concentra, ultrafiltra, pasteuriza y liofiliza obteniéndose un producto con 95% de pureza.<sup>99</sup> Alternativamente se realizan estudios para la producción a gran escala de lactoferrina humana recombinante producida en vaca.<sup>105</sup>

Existen muy pocos trabajos en los que la Lf se utiliza de manera intraperitoneal o intravenosa. Entre ellos destaca el de Zagulski *et al.*<sup>118</sup> quienes aplicaron inyecciones de Lf a ratones, 24 h antes de inducirles una infección con *E. coli* enteropatógena. La Lf previno la mortalidad de los roedores hasta 30 días después de que se manifestó la infección.<sup>118</sup>

En humanos, la manera natural de administrar lactoferrina, es la vía oral. En infantes neonatos, Reiter,<sup>79</sup> estimó que la alimentación con leche materna, permite la ingestión de 3 g de lactoferrina por día, durante la primera se-

mana de vida. Esta Lf actúa como primera línea de defensa en las mucosas intestinales; también promueve el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos. Estas bacterias cuentan con diversas estrategias para combatir a los enteropatógenos, entre ellas, la producción de ácido, de bacteriocinas, y la competencia por los sitios de adhesión en la mucosa y en el epitelio gastrointestinal.<sup>101</sup> Además, gran parte de la lactoferrina se absorbe intacta en el intestino de los neonatos, permitiendo su distribución por el torrente sanguíneo, hacia sitios de infección lejanos del tracto gastrointestinal.<sup>51</sup> Lo anterior abre un campo de posibilidades para las aplicaciones clínicas y profilácticas de la Lf en fórmulas para lactantes.<sup>81</sup>

En adultos humanos y animales, parte de la lactoferrina administrada oralmente se degrada en péptidos bioactivos, debido a la acción de la pepsina. Adicionalmente, la absorción intestinal de la Lf que permanece intacta es muy pequeña.<sup>100</sup> De allí que se piense que en estos casos, el mecanismo de protección de la Lf sea el de activar al sistema inmune. La lactoferrina es capaz de influir en la respuesta inmune sistémica de diferentes maneras. Una de ellas es la regulación de la actividad de los macrófagos y de la proliferación de linfocitos, mediante mecanismos aún no elucidados. Sin embargo, su acción más importante se relaciona con los neutrófilos polimorfonucleares; estas células, además de actuar como fagocitos, son capaces de descargar gránulos de lactoferrina en el plasma sanguíneo, poniéndolas en contacto con los microorganismos invasores.<sup>56,114</sup>

En el sistema inmune de las mucosas se han reportado diversos efectos inmunomoduladores en modelos animales y en humanos, suplementados con Lf por vía oral.<sup>28</sup> Debba-bi *et al.*,<sup>28</sup> observaron un incremento en los niveles de IgA e IgG en el fluido intestinal de ratones, así como la proliferación de placas de Peyer y esplenocitos. La administración de hidrolizados de lactoferrina, provoca un aumento de células NK y de linfocitos T del tipo CD4+ y CD8+, en la sangre y en el intestino delgado de ratones.<sup>46,55,113</sup> La molécula intacta, induce la secreción de IL-18, IL-10 y gamma interferón.<sup>46,55,67,113</sup> Los estudios en humanos muestran que la administración de Lf, induce el aumento de células Th0 y Th1 en sangre.<sup>47,119</sup> El conjunto de estas observaciones, da soporte a la idea de que la Lf y sus péptidos, son capaces de modular al sistema inmune de la mucosa intestinal, protegiéndolo contra las infecciones.<sup>99</sup> Se piensa que la Lf reconoce receptores localizados en las células del epitelio intestinal y en las células del tejido linfoide asociado al intestino (GALT, por sus siglas en inglés Gut Associated Lymphoid Tissue). Esta interacción provoca un aumento en la producción de citocinas y quimiocinas o estimula directamente a los linfocitos del GALT.<sup>98,119</sup>

Los principales estudios en humanos relacionados con la actividad antimicrobiana de la Lf, están dirigidos hacia

el efecto de esta glicoproteína, sobre la bacteria *Helicobacter pylori* y el virus de la hepatitis C. En 150 pacientes positivos para *H. pylori*, se observó un 100% de erradicación de la bacteria en pacientes que recibieron el tratamiento convencional más Lf y un 73% en los que únicamente recibieron el tratamiento convencional con antibióticos.<sup>31</sup> En un estudio piloto con 11 pacientes con hepatitis C crónica, se observó la disminución significativa de la alanina transaminasa sérica y de los conteos de carga de ARN viral, en aquellos pacientes que mostraron un conteo viral inicial baja ( $\leq 100$  kcopias/ml de ARN). Las dosis utilizadas fueron de 1.8 a 3.6 g de Lf por día, durante un periodo de 8 semanas. No se observaron efectos adversos en los pacientes.<sup>97</sup> En la actualidad se realizan estudios en 10 hospitales de Japón, para probar la efectividad de la Lf en pacientes con hepatitis B y C. Los primeros resultados confirman la efectividad de la Lf en pacientes con títulos virales bajos.<sup>44,97,98</sup>

Una de las aplicaciones potenciales de la lactoferrina que requiere de estudios *in vivo*, tanto en modelos animales como en humanos, es la de explotar el sinergismo que muestra *in vitro*, con algunos medicamentos. Este es el caso de antifúngicos como el fluorazol, del AZT utilizado en pacientes con HIV, o de diversos antibióticos. Otro aspecto muy importante en clínica, es el uso de moléculas bioactivas, como acarreadores de medicamentos antivirales. La ventaja consiste en que dichas moléculas se dirigirían únicamente hacia las células afectadas por el virus. Ello permitiría utilizar dosis de medicamento más bajas, disminuyendo sus efectos tóxicos y colaterales. Los principales estudios hasta el momento, se basan en el ensamble de medicamentos a proteínas modificadas químicamente. La idea es que las proteínas conserven su actividad antimicrobiana y que puedan dirigirse específicamente hacia las células o tejidos infectados acarreado al mismo tiempo un medicamento que también combata al patógeno causante de la infección.<sup>95,96</sup> El interés por el uso de lactoferrina en este sentido es grande, debido a su amplio espectro contra virus, hongos y bacterias.

### CONCLUSIONES

La lactoferrina es una molécula con gran potencial de uso en el tratamiento y prevención de enfermedades. La actividad antimicrobiana y la habilidad para modular el sistema inmune que presentan las Lfs humana y la bovina, han quedado bien establecidas. Se reconoce que, su capacidad para unir hierro, la acción de su carga neta positiva y su capacidad para actuar como receptor, son parte importante de sus mecanismos de defensa. Sin embargo, aún estamos lejos de entender completamente, éstas y otras estrategias que la Lf utiliza, a nivel molecular, para lograr tal diversidad de funciones. Adicionalmente, muchos estudios com-

paran la actividad de la lactoferrina y sus péptidos activos (i.e. lactoferricina), asumiendo un mismo mecanismo de acción, sin tomar en cuenta que la estructura adoptada por el péptido puede variar con respecto a la de su porción en la molécula intacta. Es necesario pues, elucidar a detalle cómo actúan unas y otros. Es preciso, además, un mayor número de ensayos en animales y humanos, con poblaciones estadísticamente significativas, para contar con datos, sobre los beneficios terapéuticos de la aplicación oral de Lf en combinación con algunos medicamentos.

### REFERENCIAS

1. Addie D.D., A. Radford, P.S. Yam, & D.J. Taylor. 2003. Cessation of feline calicivirus shedding coincident with resolution of chronic gingivostomatitis in a cat. *J. Small Anim. Pract.* 44:172-176.
2. Anderson, B.F., H.M. Baker, G.E. Norris, D.W. Rice, & E.N. Baker. 1989. Structure of human lactoferrin: Crystallographic structure analysis and refinement at 2.8 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 209:711-734.
3. Arnold, D., A.M. Di Biase, M. Marchetti, A. Pietrantoni, P. Valenti, L. Seganti, & F. Superti. 2002. Antiadenovirus activity of milk proteins: lactoferrin prevents viral infection. *Antiviral. Res.* 53:153-158.
4. Baynes, R.D., & W.R. Bezwoda. 1994. Lactoferrin and the inflammatory response. *Adv. Exp. Med. Biol.* 357:133-141.
5. Bellamy, W., M. Takase, H. Wakabayashi, K. Kawase, & Tomita, M. 1992a. Antibacterial spectrum of lactoferricin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin. *J. Appl. Bacteriol.* 73: 472-479.
6. Bellamy, W., M. Takase, K. Yamauchi, H. Wakabayashi, K. Kawase, & M. Tomita. 1992b. Identification of the bactericidal domain of lactoferrin. *Biochem. Biophys. Acta.* 1121:130-136.
7. Bellamy, W., H. Wakabayashi, M. Takase, K. Kawase, S. Shimamura, & M. Tomita. 1993. Killing of *Candida albicans* by lactoferricin B, a potent antimicrobial peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin. *Med. Microbiol. Immunol.* 182:97-105.
8. Bennett, R.M., A.C. Eddie-Quartey, & P.J. Holt. 1973. Lactoferrin: an iron binding protein in synovial fluid. *Arthritis Rheum.* 16:186-190.
9. Bernard, K.A., W.B. Klimstra, & R.E. Johnston. 2000. Mutations in the E2 glycoprotein of Venezuelan equine encephalitis virus confer heparan sulfate interaction, low morbidity, and rapid clearance from blood of mice. *Virology* 276:93-103.
10. Bezwoda, W.R., & N. Mansoor. 1989. Lactoferrin from human breast milk and from neutrophil granulocytes. Comparative studies of isolation, quantization, characterization and iron binding properties. *Biomed. Chromatogr.* 3:121-126.
11. Bhimani, R.S., Y. Vendrov, & P. Furmanski. 1999. Influence of lactoferrin feeding and injection against systemic staphylococcal infections in mice. *J. Appl. Microbiol.* 86:135-144.
12. Birkmann, A., K. Mahr, A. Ensser, S. Yaguboglu, F. Titgemeyer, B. Fleckenstein, & F. Neipel. 2001. Cell surface heparan sulfate is a receptor for human herpesvirus 8 and interacts with envelope glycoprotein K8.1. *J. Virol.* 75:11583-11593.
13. Boesman-Finkelstein, M., & R.A. Finkelstein. 1985. Antimicrobial effects of human milk: inhibitory activity on enteric pathogens. *FEMS Microbiol. Lett.* 27:167-174.
14. Borregaard, N., K. Lollike, L. Kjeldsen, H. Sengelov, L. Bastholm, M. H. Nielsen, & D.F. Bainton. 1993. Human neutrophil granules and secretory vesicles. *Eur. J. Haematol.* 51:187-198.



15. Borregaard, N. 2001. Antibiotic molecules: intracellular. Encyclopedia of Life Sciences. Nature Publishing Group. www.els.net.
16. Brade, L., K. Brandeburg, H.M. Kuhn, S. Kutsomoto, I. Macher, E.T. Rietschel, & H. Brade. 1987. The immunogenicity and antigenicity of lipid A are influenced by its physicochemical state and environment. *Infect. Immun.* 55:2636-2644.
17. Brock, J. H. 1980. Lactoferrin in human milk: its role in iron absorption and protection against enteric infection in the newborn infant. *Arch. Dis. Child.* 55:417-421.
18. Brock, J. 1995. Lactoferrin: a multifunctional immunoregulatory protein?. *Immunol. Today*, 16:417-419.
19. Bullen, J.J. 1981. The significance of iron in infection. *Rev. Infect. Dis.* 3:1127-1138.
20. Bullen, J.J., H.J. Rogers, & E. Griffiths. 1978. Role of iron in bacterial infection. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 80:1-35.
21. Byrnes, A.P., & D.E. Griffin. 1998. Binding of Sindbis virus to cell surface heparan sulfate. *J. Virol.* 72:7349-7356.
22. Chen, Y., T. Maguire, R.E. Hileman, J.R. Fromm, J.D. Esko, R.J. Linhardt, & R.M. Marks. 1997. Dengue virus infectivity depends on envelope protein binding to target cell heparan sulfate. *Nat. Med.* 3:866-871.
23. Cohen, J., & M. P. Glauser. 1991. Septic shock: treatment. *Lancet* 338:736-739.
24. Cohen, M.S., J. Mao, G.T. Rasmussen, J.S. Serody, & B.E. Britigan. 1992. Interaction of lactoferrin and lipopolysaccharide (LPS): effects on the antioxidant property of lactoferrin and the ability of LPS to prime human neutrophils for enhanced superoxide formation. *J. Infect. Dis.* 166:1375-1378.
25. Compton, T., D.M. Nowlin, & N.R. Cooper. 1993. Initiation of human cytomegalovirus infection requires initial interaction with cell surface heparan sulfate. *Virology* 193:834-841.
26. Crosa, J.H. 1989. Genetics and molecular biology of siderophore mediated iron transport in bacteria. *Microbiol. Rev.* 53:517-530.
27. Danner, R.L., K.A. Joiner, M. Rubin, W.H. Patterson, N. Johnson, K.M. Ayers, & J.E. Parrillo. 1989. Purification, toxicity, and antiendotoxin activity of polymyxin B nonapeptide. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31:230-237.
28. Debbabi, H., M. Dubarry, M. Rautureau, & D. Tome. 1998. Bovine lactoferrin induces both mucosal and systemic immune response in mice. *J. Dairy Res.* 65:283-293.
29. Dial, E.J., L.R. Hall, H. Serna, J.J. Romero, J.G. Fox, & L.M. Lichtenberger. 1998. Antibiotic properties of bovine lactoferrin on *Helicobacter pylori*. *Dig. Dis. Sci.* 43:2750-2756.
30. Dial, E.J., & L.M. Lichtenberger. 2002. Effect of lactoferrin on *Helicobacter felis* induced gastritis. *Biochem. Cell. Biol.* 80:113-117.
31. Di Mario, F., G. Aragona, N.D. Bo, A. Ingegnoli, G.M. Cavestro, A.M. Moussa, V. Iori, G. Leandro, A. Pilotto, & A. Franze. 2003. Use of Lactoferrin for *Helicobacter pylori* Eradication: Preliminary Results. *J Clin. Gastroenterol.* 36(5):396-398
32. Ellass-Rochard, E., D. Legrand, V. Salmon, A. Roseanu, M. Trif, P.S. Tobias, J. Mazurier, & G. Spik. 1998. Lactoferrin inhibits the endotoxin interaction with CD14 by competition with the lipopolysaccharide-binding protein. *Infect. Immun.* 66:486-491.
33. Ellison R.T.III. & T.J. Giehl. 1991. Killing of Gram-negative bacteria by lactoferrin and lysozyme. *J. Clin. Invest.* 88:1080-1091.
34. Esposito, J.J., & J.F. Obljeski. 1976. Enterovirus type 70 virion and intracellular proteins. *J. Virol.* 18:1160-1162.
35. Germi, R., J.M. Crance, D. Garin, J. Guimet, H. Lortat-Jacob, R.W. Ruigrok, J.P. Zarski, & E. Drouet. 2002. Cellular glycosaminoglycans and low density lipoprotein receptor are involved in hepatitis C virus adsorption. Cellular glycosaminoglycans and low-density lipoprotein receptor are involved in hepatitis C virus adsorption. *Virology.* 292:162-168.
36. Goodfellow, I.G., A.B. Sioofy, R.M. Powell, & D.J. Evans. 2001. Echoviruses bind heparan sulfate at the cell surface. *J. Virol.* 75:4918-4921.
37. Grover, M., O. Giouzeppos, R. D. Schnagl, & J.T. May. 1997. Effect of human milk prostaglandins and lactoferrin on respiratory syncytial virus and rotavirus. *Acta Paediatr.* 86:315-316.
38. Harmsen, M.C., P.J. Swart, M.P. Debethune, R. Pauwels, E. Declercq, T.H. The, & D.K.F. Meijer. 1995. Antiviral effects of plasma and milk proteins: lactoferrin shows potent activity against both human immunodeficiency virus and human cytomegalovirus replication *in vitro*. *J. Infect. Dis.* 172:380-388.
39. Hasegawa, K., W. Motosuchi, S. Tanaka, & S. Dosako. 1994. Inhibition with lactoferrin of *in vitro* infection with human herpes virus. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 47:73-85.
40. Heil, M.L., A. Albee, J.H. Strauss, & R.J. Kuhn. 2001. An amino acid substitution in the coding region of the E2 glycoprotein adapts Ross River virus to utilize heparan sulfate as an attachment moiety. *J. Virol.* 75:6303-6309.
41. Hennart, P.F., D.J. Brasseur, J.B. Delogne, M. Desnoeck, M. Dramaix, & C. E. Robyn. 1991. 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.* 53:32-39.
42. Hilgard, P., & R. Stockert. 2000. Heparan sulfate proteoglycans initiate dengue virus infection of hepatocytes. *Hepatology.* 32:1069-1077.
43. Hirai, Y., N. Kawakata, K. Satoh, Y. Ikeda, S. Hisayasu, H. Orimo, & Y. Yoshino. 1990. Concentrations of lactoferrin and iron in human milk at different stages of lactation. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. Tokyo.* 36:531-544.
44. Hirashima N, E. Orito, & K. Ohba. 2004. A randomized controlled trial of consensus interferon with or without lactoferrin for chronic hepatitis C patients with genotype 1b and high viral load. *Hepatol. Res.* 29:9-12.
45. Hutchens, T.W., S.V. Rumball, & B. Lönnerdal. 1994. Lactoferrin: Structure and function. *Adv. Exp. Med. Biol.* 357:21-32.
46. Iigo, M., T. Kuhara, Y. Ushida, K. Sekine, M.A. Moore, & H. Tsuda. 1999. Inhibitory effects of bovine lactoferrin on colon carcinoma 26 lung metastasis in mice. *Clin. Exp. Metastasis.* 17:35-40.
47. Ishii, K., N. Takamura, T. Ikehara, Y. Nishio, H. Nagai, S. Hara, T. Kawafune, Y. Sumino, & W. Yamamuro. 2000. Effect of short-term lactoferrin for patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 32:444-448.
48. Jackson, T., F.M. Ellard, R.A. Ghazaleh, S.M. Brookes, W.E. Blakemore, A.H. Corteyn, D.I. Stuart, J.W. Newman, & A.M. King. 1996. Efficient infection of cells in culture by type O foot-and-mouth disease virus requires binding to cell surface heparan sulfate. *J. Virol.* 70:5282-5287.
49. Johansen, B.G. 1960. Isolation of an iron containing red protein from human milk. *Acta Chem. Scand.* 14:510-512.
50. Lee, T.H., K. Shimazaki, S.L. Yu, M.S. Nam, S.J. Kim, K.K. Lee, & D.Y. Yu. 1997. Polymorphic sequence of Korean native goat lactoferrin exhibiting greater antibacterial activity. *Anim. Genet.* 28:367-369.
51. Kawaguchi, S., T. Hayashi, H. Masano, K. Okuyama, T. Suzuki, & K. Kawase. 1989. Effect of lactoferrin-enriched infant formula on low birth weight infants. *Shuusankigaku.* 19:125-130.
52. Kirkpatrick, C.H., I. Green, R.R. Rich, & A.L. Schade. 1971. Inhibition of growth of *Candida albicans* by iron-unsaturated lactoferrin: relation to host-defense mechanisms in chronic mucocutaneous candidiasis. *J. Infect. Dis.* 124:539-544.
53. Klimstra, W.B., H.W. Heidner, & R.E. Johnston. 1999. Adaptation of Sindbis virus to BHK cells selects for use of heparan sulfate as an attachment receptor. *J. Virol.* 73:6299-6306.
54. Kuipers, M.E., H.G. de Vries, M.C. Eikelboom, D.K.F. Meijer, & P.J. Swart. 1999. Synergistic fungistatic effects of lactoferrin in combination with antifungal drugs against clinical *Candida* isolates. *Antimicrob. Chemother.* 43:2635-2641.

55. Kuhara, T., M. Iigo, T. Ito, Y. Ushida, K. Sekine, N. Terada, H. Okamura, & H. Tsuda. 2001. Orally administered lactoferrin exerts an antimetastatic effect and enhances production of IL-18 in the intestinal epithelium. *Nutr. Cancer*. 38:192-199.
56. Levay, P.F., & M. Viljoen. 1995. Lactoferrin: a general review. *Acta Haematol.* 80:252-267.
57. Lewis, L.A., K. Rohde, M. Gipson, B. Behrens, E. Gray, S.I.Toth, B.A. Roe, & D.W. Dyer. 1998. Identification and molecular analysis of LbpBa, which encodes the two-component meningococcal lactoferrin receptor. *Infect. Immun.* 66:3017-3023.
58. Lönnerdal, B., & S. Iyer. 1995. Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annu. Rev. Nutr.* 15:93-110.
59. Majerle, A., J. Kidric, & R. Jerala. 2003. Enhancement of antibacterial and lipopolysaccharide binding activities of a human lactoferrin peptide fragment by the addition of acyl chain. *J. Antimicrob. Chemother.* 51:1159-1165.
60. Marchetti, M., F. Superti, M.G. Ammendolia, P. Rossi, P. Valenti, & L. Seganti. 1999. Poliovirus type 1 infection by iron-, manganese- and zinc-saturated lactoferrin. *Med. Microbiol. Immunol.* 187:199-204.
61. Marra, M.N., C.G. Wilde, J.E. Griffith, J.L. Snable, & R.W. Scott. 1990. Bactericidal/permeability increasing protein has endotoxin-neutralizing activity. *J. Immunol.* 144:662-666.
62. Masson, P.L., & J.F. Heremans. 1966. Studies on lactoferrin, the iron binding protein of secretions. *Prot. Biol. Fluids.* 14:115-124.
63. Meijer D.K.F., R.P.G. van Heeswijk, P.J. Swart, L. Beljaars, J.G. Huisman, A. Koenderman, T.H. The, M.C. Harmsen, R. Floris, J.J.M. van den Berg, C. Smit, H. Bakker, B.W.A. van der Strate, M.E. Kuipers, R.W. Jansen, G. Molema, & B. Berkhout. 2001. Charge-modified plasma and milk proteins that interfere with HIV and CMV/target cell binding and fusion. *Recent Dev. Antivir. Res.* 1:81-115.
64. Miyazawa, K., C. Mantel, L. Lu, D.C. Morrison, & H.E. Broxmeyer. 1991. Lactoferrin-lipopolysaccharide interactions. Effect on lactoferrin binding to monocyte/macrophage-differentiated HL-60 cells. *J. Immunol.* 146:723-729.
65. Morrison, D. C. 1998. Antibiotic-mediated release of endotoxin and the pathogenesis of Gram-negative sepsis. *Prog. Clin Biol. Res.* 397:199-207.
66. Murphy, M.E., H. Kariwa, T. Mizutani, K. Yoshimatsu, J. Arikawa, & I. Takashima. 2000. *In vitro* antiviral activity of lactoferrin and ribavirin upon hantavirus. *Arch. Virol.* 145:1571-1582.
67. Nakajima, M., H. Iwamoto, T. Shirasawa, H. Miyauchi, Z. Takatsu & N. Yamazaki. 1999. Oral administration of lactoferrin enhances the production of IFN- $\gamma$  and IL-10 in spleen cells cultured with concanavalin A or lipopolysaccharide. *Biomed. Res.* 20:27-33.
68. Nemet, K., & I. Simonovits. 1985. The biological role of lactoferrin. *Haematologia*, 18:3-12.
69. Nibbering, P.H., E. Ravensbergen, M.M. Welling, L.A. Van Berkel, P.H. C. Van Berkel, E. K. J. Pauwels, & J. H. Nuijens. 2001. Human lactoferrin and peptides derived from its N terminus are highly effective against infections with antibiotic-resistant bacteria. *Infect. Immun.* 69:1469-1476.
70. Pakkanen, R., & J. Alto. 1997. Review paper: Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrums. *Int. Dairy J.* 7:285-297.
71. Patel, M., M. Yanagishita, G. Roderiquez, D.C. Bouhabib, T. Oravec, V.C. Hascall, & M.A. Norcross. 1993. Cell-surface heparan sulfate proteoglycan mediates HIV-1 infection of T-cell lines. *Aids Res. Hum. Retrov.* 9:167-174.
72. Paterson, A.A., S.W. Fesik, & E.J. McGroarty. 1987. Decreased binding of antibiotics to lipopolysaccharide from polymyxin-resistant strains of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31: 230-237.
73. Pietrantoni, A., A.M. Di Biase, A. Tinari, M. Marchetti, P. Valenti, L. Seganti & F. Superti. 2003. Bovine lactoferrin inhibits adenovirus infection by interacting with viral structural polypeptides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47:2688-2691.
74. Puddu, P., P. Borghi, S. Gessani, P. Valenti, F. Belardelli, & L. Seganti. 1998. Antiviral effect of bovine lactoferrin saturated with metal ions on early steps of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Int. J. Biochem. Cell B.* 30: 1055-1063.
75. Putman, M., L. A. Koole, H. W. van Veen, & W. N. Konings. 1999. The secondary multidrug transporter LmrP contains multiple drug interaction sites. *Biochemistry* 38:13900-13905.
76. Recio, I., & S. Visser. 2000. Antibacterial and binding characteristics of bovine, ovine and caprine lactoferrins: A comparative study. *Int. Dairy J.* 10:597-605.
77. Reinard, P. 1986. Bacteriostasis of *E. coli* by bovine lactoferrin, transferrin and immunoglobulins (IgG1, IgG2, IgM) acting alone or in combination. *Vet. Microbiol.* 11:103-115.
78. Reiter, B. 1983. The biological significance of lactoferrin. *Int. J. Tissue React.* 5:87-96.
79. Reiter, B. 1985. The biological significance of the non-immunoglobulin protective proteins in milk. *Dev. Dairy Chem.* 3:281-336.
80. Rietschel, E.T., T. Kirikae, F.U. Schade, U. Mamat, G. Schmidt, & H. Loppnow. 1994. Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function. *FASEB J.* 8:217-25.
81. Roberts, A.K., R. Chierici, G. Sawatzki, M.J. Hill, S. Volpato, & V. Vigi. 1992. Supplementation of an adapted formula with bovine lactoferrin: 1. Effect on the infant fecal flora. *Acta Paediatr.* 81:119-124.
82. Rogers, H.J., & C. Synge. 1978. Bacteriostatic effect of human milk on *E. coli*: The role of IgA. *Immunology.* 34:19-28.
83. Roque, W.J., S.W. Fesik, A. Haug, & E.J. McGroarty. 1987. Polycation binding to isolates lipopolysaccharide from antibiotic-hyper-susceptible mutants strains of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 32:308-313.
84. Samson, R.R., C. Mirtle, & D.B.L. McClelland. 1979. Secretory IgA does not enhance the bacteriostatic effect of iron-binding or vitamin B12-binding protein in human colostrum. *Immunology.* 38: 367-373.
85. Sato, R., O. Inanami, Y. Tanaka, M. Takase, & Y. Naito. 1996. Oral administration of bovine lactoferrin for treatment of intractable stomatitis in feline immunodeficiency virus (FIV)-positive and FIV-negative cats. *Am J. Vet. Res.* 57:1443-1446.
86. Schryvers, A.B., R. Bonnah, R.H. Yu, H. Wong, & M. Retzer. 1998. Bacterial lactoferrin receptors. *Adv. Exp. Med. Biol.* 443:123-133.
87. Sekine, K., Y. Ushida, T. Kuhara, M. Iigo, H. Baba-Toriyama & M.A Moore. 1997. Inhibition of initiation and early stage development of aberrant crypt foci and enhanced natural killer activity in male rats administered bovine lactoferrin concomitantly with azoxymethane. *Cancer Lett.* 121:211-216.
88. Shukla, D., & P.G. Spear. 2001. Herpesviruses and heparan sulfate: an intimate relationship in aid of viral entry. *J. Clin. Invest.* 108:503-510.
89. Sorensen, M., & S.P.L. Sorensen. 1939. The protein in whey. *Trav. Lab. Carlsberg.* 23:55-99.
90. Stephens, S., J.M. Dolby, J. Montreuil, & G Spik. 1980. Differences in inhibition of the growth of commensal and enteropathogenic strains of *E. coli* by lactoferrin and sIgA isolated from human milk. *Immunology.* 41:597-603.
91. Stokes, D. C., J. L. Shenep, M. Fishman, W. K. Hildner, G. K. Bysani, & K. Rufus. 1989. Polymyxin B prevents lipopolysaccharide-induced release of tumor necrosis factor-alpha from alveolar macrophages. *J. Infect. Dis.* 160:52-57.
92. Summerford, C., & R.J. Samulski. 1998. Membrane-associated heparan sulfate. *J. Virol.* 72:1438-1445.
93. Superti, F., M. G. Ammendolia, P. Valenti, & L. Seganti. 1997. Antitrotaviral activity of milk proteins: lactoferrin prevents rotavirus

- infection in the enterocyte-like cell line HT-29. *Med. Microbiol. Immunol.* 186:83-91.
94. Swart, P.J., E.M. Kuipers, C. Smit, B.W.A. Van Der Strate, M.C. Harmsen, & D.K. Meijer. 1998. Antiviral activity of lactoferrin. *Adv. Exp. Med. Biol.* 443:205-213.
  95. Swart, P.J., M.C. Harmsen, M.I. Kuipers, A.A. Van Dijk, B.W.A. van der Strate, P.H.C. Van Berkel, J.H. Nuijens, C. Smit, M. Witvrouw, E. De Clercq, M.P. De Bethune, R. Pauwels, & D.K.F. Meijer. 1999. Charge modification of plasma and milk proteins in antiviral active compounds. *J. Pept. Sci.* 5:563-576.
  96. Swart, P.J., M.E. Kuipers, C. Smit, R. Pauwels, M.P. DeBethune, E. DeClercq, D.K. Meijer, & J.G. Huisman, J.G. 1996. Antiviral effects of milk proteins: acylation results in polyanionic compounds with portent activity against human immunodeficiency virus types 1 and 2 *in vitro*. *Aids Res. Human Retroviruses* 12:769-775.
  97. Tanaka, K., M. Ikeda, A. Nozaki, N. Kato, H. Tsuda, S. Saito, & H. Sekihara. 1999. Lactoferrin inhibits hepatitis C virus viremia in patients with chronic hepatitis C: a pilot study. *Jpn. J. Cancer Res.* 90:367-371.
  98. Tomita, M., M. Takase, W. Bellamy, & S. Shimamura. 1994. A review: the active peptide of lactoferrin. *Acta Paediatr. Jpn.* 36:585-591.
  99. Tomita, M., H. Wakabayashi, K. Yamauchi, S. Teraguchi, & H. Hayasawa. 2002. Bovine lactoferrin and lactoferricin derived from milk production and applications. *Biochem. Cell Biol.* 80:109-112.
  100. Troost, F.J., W.H. M. Saris, & R-J.M. Brummer. 2002. Orally ingested human lactoferrin is digested and secreted in the upper gastrointestinal tract *in vivo* in women with ileostomies. *J. Nutr.* 78:2597-2600.
  101. Trumpler, U.P., W. Straub, & A. Rosenmund. 1989. Antibacterial prophylaxis with lactoferrin in neutropaenic patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 8:310-318.
  102. Trybala, E., A. Roth, M. Johansson, J.A. Liljeqvist, E. Rekabdar, O. Larm, & T. Bergstrom. 2002. Herpes simplex virus type 1 glycoprotein C is necessary for efficient infection of chondroitin sulfate-expressing gro2C cells. *Virology*: 302:413-419.
  103. Valenti, P., M. Marchetti, F. Superti, M.G. Amendolia, P. Puddu, S. Gessani, P. Borghi, F. Belardelli, G. Antonini, & L. Seganti. 1998. Antiviral activity of lactoferrin. *Adv. Exp. Med. Biol.* 443:199-203.
  104. Van Berkel, P.H., M.E. Geerts, H.A. van Veen, M. Mericskay, H.A. de Boer, & J.H. Nuijens. 1997. 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.* 328:145-151.
  105. Van Berkel, P. H.C., M.M. Welling, M. Geerts, H.A. van Veen, B. Ravensbergen, M. Salaheddine1, E.K.J. Pauwels, F. Pieper, J.H. Nuijens, & P. H. Nibbering. 2002. Large scale production of recombinant human lactoferrin in the milk of transgenic cows. *Nature Biotech.* 20:484-487.
  106. Van Hooijdonk, A., K. D. Kussendrager, & J Steijns. M. 2000. *In vivo* antimicrobial and antiviral activity of components in bovine milk and colostrum involved in non-specific defense. *Br. J. Nutr.* 84:127-134.
  107. Van der Strate, B.W.A., L. Beljaars, G. Molema, M.C. Harmsen, & D.K.F. Meijer. 2001. Antiviral activities of lactoferrin. *Antivir. Res.* 52:225-239.
  108. Van der Strate, B.W.A., M.C. Harmsen, T.H. The, H.G. Sprenger, H. de Vries, M.C. Eikelboom, M.E. Kuipers, D.K.F. Meijer, & P.J. Swart. 2000. Plasma Lactoferrin levels are decreased in end-stage AIDS-patients. *Viral Immunol.* 12:197-203.
  109. Vorland, L. H. 1999. Lactoferrin: a multifunctional glycoprotein. *Apmis* 107:971-981.
  110. Waarts, B.L., O. Aneke, J.M. Smit, K. Kimata, R. Bittman, D Meijer & J. Wilschut. 2004. Antiviral activity of human lactoferrin: Inhibition of alphavirus interaction with heparan sulfate. pp 108-120 In B.L Waarts (Eds). *Cell entry mechanisms of alphavirus* editor. Groningen University. The Netherlands.
  111. Wakabayashi, H., S. Abe, T. Okutomi, S. Tansho, K. Kawase, & H. Yamauchi. 1996. Cooperative anti-*Candida* effects of lactoferrin or its peptides in combination with azole antifungal agents. *Microbiol. Immunol.* 40:821-825.
  112. Wakabayashi H., K. Uchida, K. Yamauchi, S. Teraguchi, H. Hayasawa, & H. Yamauchi. 2000. Lactoferrin given in food facilitates dermatophytosis cure in guinea pig models. *J. Antimicrob. Chem.* 46:595-602.
  113. Wang, W.P., M. Iigo, J. Sato, K. Kazuhiro, I. Adachi, & H. Tsuda, H. 2000. Activation of intestinal mucosal immunity in tumor-bearing mice by lactoferrin. *Jpn. J. Cancer Res.* 91:1022-1027.
  114. Ward, P.P., S. Uribe-Luna, & O. Conneely. 2002. Lactoferrin and host defense. *Biochem. Cell Biol.* 80:95-102.
  115. Yamauchi, K., M. Tomita, T.J. Giehl & R.T. Ellison III. 1993. Antibacterial activity of lactoferrin and a pepsin-derived lactoferrin peptide fragment. *Infect. Immun.* 61:719-728.
  116. Yi, M. Y., S. Kaneko, D. Y. Yu, & S. Murakami. 1997. Hepatitis C virus envelope proteins bind lactoferrin. *J. Virol.* 71:5997-6002.
  117. Yoshida, S., Z. Wei, Y. Shinmura, & N. Fukunaga. 2000. Separation of lactoferrin-a and lactoferrin-b from bovine colostrum. *J. Dairy Sci.* 83:2211-2215.
  118. Zagulski T, P. Lipinski , A. Zagulska, & Z. Jarzabek. 1998. Antibacterial system generated by lactoferrin in mice *in vivo* is primarily a killing system. *Int J. Exp. Pathol.* 79:117-123.
  119. Zimecki, M., A. Wlaszczyk, P. Cheneau, A-S. Brunel, J. Mazurier, & G. Spik. 1998. Immunoregulatory effects of a nutritional preparation containing bovine lactoferrin taken orally by healthy individuals. *Arch. Immun. Ther. Exp.* 46:231-40.

*Correspondencia:*

**Gabriela Ramos-Clamont Montfort**

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo  
A.C. Coordinación de Ciencia de los Alimentos.  
Carretera a la Victoria km 0.6.  
Hermosillo, Sonora. 83000.  
Tel y fax (662) 280-00-58.  
gramos@cascabel.ciad.mx