

DOI: 10.15690/pf.v13i6.1677

П.Е. Садчиков¹, И.Л. Гольдман², Л.С. Намазова-Баранова^{1, 3, 4}, Г.В. Яцык¹, Т.Э. Боровик^{1, 3}, А.Д. Черноусов^{2, 5}, А.И. Романченко², Е.Р. Садчикова², О.Л. Лукоянова¹, Н.Г. Звонкова^{1, 3}, И.А. Беляева¹

¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

² Институт биологии гена, Москва, Российская Федерация

³ Первый Московский медицинский государственный университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

⁴ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

⁵ Государственный научный центр «Институт иммунологии», Москва, Российская Федерация

Возможности применения лактоферрина у детей первого года жизни

Контактная информация:

Садчиков Павел Евгеньевич, аспирант отделения для недоношенных детей НЦЗД

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2 стр. 1, тел.: +7 (968) 708-01-40, e-mail: borovik@nczd.ru

Статья поступила: 26.04.2016 г., принята к печати: 26.12.2016 г.

В статье обобщены результаты исследований, посвященных изучению антибактериальных, противовирусных и противогрибковых свойств многофункционального белка человека — лактоферрина, для определения перспектив его применения с целью профилактики и лечения инфекционной патологии у детей первого года жизни. Описаны механизмы противoinфекционного действия этого белка у детей, находящихся на грудном вскармливании. Показаны основные различия между лактоферрином человека и лактоферрином крупного рогатого скота. Описана биотехнология получения рекомбинантного лактоферрина человека из молока генно-инженерных молочных животных (коз-производителей). Согласно проведенным исследованиям, как по физико-химическим параметрам, так и по биологической активности лактоферрин человека, выделенный из молока коз-производителей, соответствует его природному аналогу.

Ключевые слова: дети, лактоферрин, антибиотикорезистентная микрофлора, инфекционная патология.

(Для цитирования: Садчиков П.Е., Гольдман И.Л., Намазова-Баранова Л.С., Яцык Г.В., Боровик Т.Э., Черноусов А.Д., Романченко А.И., Садчикова Е.Р., Лукоянова О.Л., Звонкова Н.Г., Беляева И.А. Лактоферрин в проблеме противoinфекционной защиты детей первого года жизни. *Педиатрическая фармакология*. 2016; 13 (6): 607–613. doi: 10.15690/pf.v13i6.1677)

607

Pavel E. Sadchikov¹, Igor L. Goldman², Leila S. Namazova-Baranova^{1, 3, 4}, Galina V. Yatsik¹, Tatiana E. Borovik^{1, 3}, Alexandr D. Chernousov^{2, 5}, Alexandr I. Romanchenko², Elena R. Sadchikova², Olga L. Lukoyanova¹, Natalia G. Zvonkova^{1, 3}, Irina A. Belyaeva¹

¹ Scientific Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

² Institute of Gene Biology, Moscow, Russian Federation

³ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

⁴ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

⁵ State Science Center "Institute of Immunology", Moscow, Russian Federation

Lactoferrin in the Problem of Anti-Infectious Protection of Babies in their first Year of Living

The author summarizes the results of research of the antibacterial, antiviral and antifungal properties of multifunctional human protein — lactoferrin, in order to determine the prospects for its use in the prevention and treatment of infectious diseases of children in their first year of life. The mechanisms of anti-infectious effect of this protein with breastfed children have been described. Basic differences between human lactoferrin and cattle lactoferrin have been shown. Biotechnology of obtaining recombinant human lactoferrin from the milk of genetically engineered dairy animals (goat-producers) has been described. According to the studies, both by physical and chemical parameters and biological activity, human lactoferrin, obtained from milk-producing goats, corresponds to its natural counterpart.

Key words: children, lactoferrin, antibiotics-resistant microflora, infection pathology.

(For citation: Sadchikov Pavel E., Goldman Igor L., Namazova-Baranova Leila S., Yatsik Galina V., Borovik Tatiana E., Chernousov Alexandr D., Romanchenko Alexandr I., Sadchikova Elena R., Lukoyanova Olga L., Zvonkova Natalia G., Belyaeva Irina A. Lactoferrin in the Problem of Anti-Infectious Protection of Babies in their first Year of Living. *Pediatricheskaya farmakologiya — Pediatric pharmacology*. 2016; 13 (6): 607–613. doi: 10.15690/pf.v13i6.1677)

ВВЕДЕНИЕ

По прогнозам Всемирной организации здравоохранения, через 10–20 лет практически все патогенные микроорганизмы приобретут устойчивость к антибиотикам [1]. В европейских странах уже сегодня ежегодно регистрируются новые инфекции с множественной устойчивостью к антибиотикам [1]. По данным российских эпидемиологов, практически все возбудители таких распространенных болезней, как сепсис, пневмония, отит, гайморит, стали устойчивыми к действию антибиотиков [2]. Самая сложная ситуация — с лечением инфекционной патологии у детей первого года жизни, у которых по показаниям можно применять лишь ограниченный перечень антибактериальных препаратов. Количество детей, которым вынужденно, и иногда безрезультатно, назначают по 2–3 антибиотика, постоянно растет [3].

Внутрибольничные инфекции в неонатальных учреждениях занимают ведущее место в общей заболеваемости новорожденных детей [4]. С их распространением связана необходимость проведения активных противoinфекционных мероприятий, как традиционных (гигиенических), так и с использованием природных бактерицидных белков.

В последние годы ученые обращают пристальное внимание на природные иммуногенные белки женского молока (лактоферрин, лизоцим, лактопероксидаза, иммуноглобулины классов D, G, A, M, α -лактальбумин, липаза и к-казеин), которые играют важную роль в защите новорожденного ребенка от инфекций в период становления у него собственных механизмов активной иммунологической защиты, особенно у детей, находящихся на искусственном вскармливании.

ЛАКТОФЕРРИН — ИММУНОГЕННЫЙ БЕЛОК МОЛОКА

Лактоферрин впервые был обнаружен и выделен из коровьего молока в 1939 г., в 1960 г. его выделили из женского молока. В дальнейшем было показано, что лактоферрин активно синтезируется не только клетками молочной железы, но и эпителиальными клетками матки, миелоидными клетками крови, клетками мозга. Было установлено также его присутствие в таких биологических жидкостях, как слюна, слезы, семенная жидкость. Большое количество лактоферрина обнаруживается в эпителии слезных желез, желудочно-кишечного тракта и шейки матки — потенциальных ворот для проникновения инфекции, что подтверждает высокую физиологическую значимость этого бактерицидного белка на протяжении всей жизни человека [5–7].

Предполагается, что с действием лактоферрина связан рост эпителиальных клеток, влияющий на созревание кишечника у новорожденных детей [8, 9].

Находящийся в грудном молоке лактоферрин проникает через гематоэнцефалический барьер, оказывает положительное влияние на развитие головного мозга и имеет в том числе анальгезирующее действие [10, 11].

Основная биологическая активность лактоферрина заключается в связывании и транспорте ионов железа [12, 13]. Для детей первого года жизни особенно важны антибактериальные, противовирусные, противогрибковые и противопаразитарные свойства лактоферрина [14]. Кроме того, подтверждены его каталитическая активность, противоаллергические, иммуномодулирующие и радиопротекторные свойства [15].

Лактоферрин женского молока играет важную роль в противoinфекционной защите новорожденного ребенка. Основным механизмом бактериостатической активности лактоферрина состоит в том, что, находясь в свобод-

ной от железа форме (аполактоферрин), он связывает железо в слизистой оболочке кишечника, останавливая рост патогенной микрофлоры [16]. Бактерицидная активность лактоферрина проявляется посредством связывания лактоферрина с липополисахаридами мембраны грамотрицательных и грамположительных патогенных микроорганизмов, что приводит к разрушению мембраны [17–19]. Эффективных механизмов формирования генетической устойчивости патогенных микроорганизмов к лактоферрину нет.

Важным свойством лактоферрина, в отличие от многих других известных антимикробных средств, является сохранение сапрофитной микрофлоры кишечника [20]. В отличие от антибиотиков лактоферрин не является антагонистом для таких значимых компонентов кишечной микробиоты, как *Bifidobacteriae* и *Lactobacillus*, выступая прямым активатором их роста, не вызывает развития дисбактериозов [21].

Установлено, что в желудочно-кишечном тракте ребенка в результате протеолиза лактоферрина образуется ряд пептидов, получивших название лактоферрицинов, обладающих собственной противомикробной активностью, причем с еще более выраженной, чем нативная молекула белка [22].

Продемонстрировано противогрибковое действие лактоферрина и его производных, проявляющееся посредством инактивации спорозидов, которые оказываются неспособными к инфицированию клеток, или через прямое разрушение клеточной стенки фитопатогена, приводящее к его гибели [23–25]. Экспериментальные исследования показали, что лактоферрин губительно воздействует также на некоторые вирусы человека и животных с ДНК- и РНК-генами [26]. При общесистемном воспалении лактоферрин связывает бактериальные липополисахариды, способствующие развитию септических состояний, а также активирует синтез противовоспалительных цитокинов — интерлейкина 18, γ -интерферона — и запускает системы клеточной защиты. Показана возможность использования лактоферрина для уменьшения интоксикации организма, наблюдаемой у онкологических больных после химио- и радиотерапии, что позволяет в полном объеме провести у них эффективное лечение без снижения доз лекарственных химиопрепаратов и радиоактивных доз [27]. Важно отметить и положительный опыт использования лактоферрина совместно с антибиотиками, что многократно усиливает их терапевтический эффект [28, 29].

Таким образом, лактоферрин — это полифункциональный белок, обладающий выраженным антимикробным, противовирусным и противогрибковым действием, способный оказывать как прямое воздействие на причину септических состояний, так и включать защитные иммунные механизмы во взаимодействии с другими белковыми факторами.

ЛАКТОФЕРРИН ЧЕЛОВЕКА ПРИ ГРУДНОМ ВСКАРМЛИВАНИИ РЕБЕНКА

Благодаря наличию в женском молоке многочисленных противовоспалительных и иммунорегулирующих белков, в том числе секреторных антител, нуклеотидов, лактоферрина, лизоцима, гликанов (олигосахаридов и гликоконъюгатов), лейкоцитов, цитокинов и других биологически активных факторов, обеспечивается противoinфекционная защита новорожденных детей, находящихся на грудном вскармливании [30].

По рекомендациям Всемирной организации здравоохранения и Американской академии педиатрии, кормление детей исключительно материнским молоком должно продолжаться не менее 6 мес, а согласно позиции европейских

и российских специалистов с учетом последней информации о наличии «окна» толерантности — не менее 4–6 мес. В нашей стране из-за активного продвижения на потребительский рынок детских молочных смесей и сохранения в некоторых руководствах старых рекомендаций по раннему введению прикорма, который начинают использовать уже с 3-месячного возраста, доля грудного молока в питании ребенка остается относительно низкой [31].

Обобщив положительные эффекты грудного вскармливания, специалисты Американской академии педиатрии показали, что дети, вскармливаемые материнским молоком, содержащим достаточное количество бактерицидного белка лактоферрина, реже болеют. В частности, инфекционная заболеваемость у них была ниже, чем у детей, находящихся на искусственном вскармливании [32].

Грудное молоко — это лучшая природная поддержка, стимулирующая становление собственного иммунитета ребенка первого года жизни. В нашей стране количество детей на грудном вскармливании в первые 6 мес жизни составляет около 40%, тогда как в других странах этот процент в 1,5–2 раза выше: в Норвегии — 90%, в Венгрии — 87%, в Швеции — 60% [33]. Кормление детей грудью оказывает благоприятное воздействие и на самих матерей: у женщин, которые кормили своих детей грудью не менее 12 мес, в последующем реже возникали сердечно-сосудистые заболевания, рак груди, ревматоидный артрит и сахарный диабет [34].

Профилактическая доза лактоферрина поступает в организм новорожденного ребенка уже с первым кормлением. В молозиве здоровой матери содержится 5–7 г/л лактоферрина. Концентрация его в зрелом женском молоке на протяжении лактации постепенно снижается, обычно до 1–1,5 г/л. Вместе с тем достаточная для противoinфекционной защиты ребенка концентрация лактоферрина продолжает поддерживаться благодаря увеличению общего объема высасываемого им молока. Зарубежные неонатологи признают ключевую роль лактоферрина в противoinфекционной защите новорожденных детей, однако отмечают, что обеспечение физиологической потребности в нем возможно лишь в случае наличия в молоке матери достаточного количества этого белка [35].

Недавние исследования американских ученых показали, что содержание лактоферрина в молоке кормящих матерей зависит от многих причин: расовой принадлежности женщин, региона их проживания (Австралия, Китай, Чили, Канада, Мексика, Япония, Филиппины, Великобритания и США), возраста, состояния здоровья и периода лактации. Установлено, что наименьшее среднее значение содержания лактоферрина — 1,37 г/л — было в грудном молоке мексиканок, наибольшее — 2,12 г/л — у китайянок. У австралиек содержание в грудном молоке лактоферрина оставалось неизменным на протяжении всего первого года жизни ребенка, тогда как у канадских матерей, а еще в большей степени у английских женщин, — к середине первого года жизни ребенка содержание лактоферрина в молоке стремительно падало [36].

Индивидуальные вариации концентрации лактоферрина, определенные в молозиве здоровых европейских рожениц, находятся в широком интервале — 0,6–9,8 г/л [37]. По данным многочисленных зарубежных исследований, средний показатель значения концентрации лактоферрина в женском молоке принимается равным 2,8 г/л [38]. При этом отсутствует значимая корреляция между качеством питания матери и содержанием в ее молоке данного белка. В сравнительном исследовании грудного молока, полученного от кормящих женщин различных социальных групп в Эфиопии и хорошо питающихся мате-

рей в Швеции, было обнаружено большее содержание лактоферрина в группах женщин из Эфиопии, как с высоким, так и с низким социальным статусом, что подтверждает значение расовой принадлежности и генетической детерминанты в выработке лактоферрина [39].

Несмотря на то, что содержание лактоферрина варьирует на протяжении лактации, его концентрация в зрелом молоке остается относительно постоянной в течение 2 лет после родов. При этом наибольшая концентрация лактоферрина в женском молоке приходится на период достижения ребенком 3-месячного возраста и составляет до 3,3 г/л [36].

По данным Американской академии педиатрии, ежедневное потребление материнского молока у детей, находящихся исключительно на грудном вскармливании (учитывая стандартный показатель содержания энергии в материнском молоке 0,67 ккал/мл), в первые 2 мес жизни составляет 102 мл/кг массы тела в сутки. Наибольшее потребление молока — 128 мл/кг в сут — наблюдается у детей в возрасте 3 мес, а к 12 мес этот показатель снижается до 51 мл/кг в сут. Исходя из этих данных, нами рассчитан средний показатель, характеризующий поступление в организм ребенка лактоферрина с материнским молоком, который колеблется от 0,14 до 0,5 г/кг в сут. Некоторые физиологи полагают, что это количество лактоферрина является избыточным, поскольку у здоровых детей значительная его часть выводится с калом [40]. Однако, у недоношенных, детей, родившихся с низкой массой тела или страдающих инфекционной патологией, концентрация лактоферрина в кале значительно снижается [41].

В настоящее время в практической медицине определение содержания лактоферрина в женском молоке рутинно не проводится, а является прерогативой научных исследований. Тем не менее установлено, что здоровье младенцев находится в определенной зависимости от концентрации лактоферрина в молоке их матерей. Так, например, исследователи из Нигерии установили, что в грудном молоке 202 обследованных кормящих матерей, дети которых были здоровы, концентрация лактоферрина на различных этапах лактации составила в среднем 0,93 г/л (0,95 г/л — в молозиве, 0,91 г/л — в переходном молоке, 0,91 г/л — в зрелом молоке). В грудном молоке 189 обследованных матерей, дети которых имели различную инфекционную патологию, концентрация лактоферрина составила 0,66 г/л (0,68 г/л — в молозиве, 0,64 г/л — в переходном молоке и 0,36 г/л — в зрелом молоке) [41]. Подобное исследование с аналогичным результатом выполнено в Народном университете медицины и исследования здоровья Пакистана, в котором было обследовано 356 кормящих матерей, имевших здоровых детей. При этом среднее содержание лактоферрина в их молоке составляло 0,94 г/л, тогда как в молоке 318 матерей, дети которых были с инфекционной патологией, концентрация лактоферрина была в 2,5 раза ниже (0,37 г/л) [42].

В тех случаях, когда содержание лактоферрина в молоке матери оказывается чрезвычайно низким, целесообразно добавление его к грудному молоку. Для детей, которые находятся на искусственном вскармливании, назначение лактоферрина, по нашему мнению, должно стать обязательным. Это актуально и для случаев временного прекращения грудного вскармливания при инфекционных заболеваниях матерей или вынужденного приема ими лекарственных средств, появление которых в молоке может оказать негативное влияние на здоровье грудного ребенка. Особую роль назначение лактоферрина играет в профилактике возникновения инфекционной патологии: у недоношенных, детей со сниженным имму-

нитетом, нарушениями нутритивного статуса, после перенесенных хирургических вмешательств и др. [14, 43, 44].

ЛАКТОФЕРРИН КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ДЕТСКОМ ПИТАНИИ

Использование цельного коровьего молока в питании грудных детей невозможно. Кроме того, содержание в нем лактоферрина составляет всего лишь 0,02 г/л [45]. Были разработаны промышленные методы выделения этого белка из коровьего молока. Первые промышленные выпуски коровьего лактоферрина относятся к 1985 г., осуществленные сначала в Бельгии (DOMO Food Ingredients), затем в Германии (MILEI), позднее в Голландии (DMV International) и Новой Зеландии (Tatua Nutritionals и Fonterra). Суммарный объем производства лактоферрина из коровьего молока в настоящее время составляет около 100 тонн в год [46].

Сначала были проведены многочисленные экспериментальные исследования по определению воздействия коровьего лактоферрина на организм лабораторных животных, показавшие его полную безопасность для их здоровья [47]. Затем на здоровых добровольцах была продемонстрирована хорошая переносимость этого белка даже в больших дозах [48]. В настоящее время разрешительными ведомствами многих стран коровий лактоферрин признан биологически безопасным в качестве пищевого ингредиента. Агентство по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США (FDA) еще в 2001 г. признало его биологическую безопасность [49]. Комитет по пищевым продуктам, питательным веществам и аллергенам (NDA) Европейского Управления по безопасности продуктов питания (EFSA) в 2012 г. заявил о безопасности продуктов питания, содержащих коровий лактоферрин, в том числе в составе пищевых добавок для детского и диетического питания [47]. В Японии была создана антибактериальная композиция, содержащая коровий аполактоферрин и лизоцим, в Китае — биологически активный продукт из молозива коров. Для использования в кормлении недоношенных детей предложена разработанная в Японии и запатентованная в России антибактериальная композиция, содержащая иммуноглобулины, лактоферрин и лизоцим [50]. Московским государственным университетом прикладной биотехнологии разработан препарат, имеющий в своем составе коровий лактоферрин, лактопероксидазу, панкреатическую РНКазу и ангиогенин [51].

Систематизации и анализу результатов клинических исследований, в которых эффекты коровьего лактоферрина изучались у детей разных возрастов, наблюдавшихся в неонатологических и педиатрических клиниках различных стран мира, были посвящены специальные работы [52, 53]. Основной задачей этих исследований (всего 19) была оценка влияния коровьего лактоферрина на показатели обмена железа, а также эффективности использования этого белка для профилактики кишечных инфекций и сепсиса у новорожденных детей, в том числе у недоношенных и детей, родившихся с низкой массой тела, а также у ВИЧ-инфицированных пациентов. Исследования показали выраженную тенденцию к уменьшению инфекций у детей, получивших лечение. Следует отметить, что в этих исследованиях использование коровьего лактоферрина было начато в среднем на 4-е сут жизни. Полное введение добавки продолжалось всего 12 сут вследствие ограничения среднего срока пребывания младенца в отделении интенсивной терапии. Кроме того, наблюдаемые случаи сепсиса в этом исследовании были диагностированы в течение первых 10 сут от начала вмешательства, в то время как на 10-е сут от начала

вмешательства в группе детей, получавших лактоферрин, не было обнаружено ни одного случая сепсиса против 6 в группе плацебо. Более выраженный статистически значимый противомикробный эффект был получен при применении лактоферрина в самые первые часы жизни младенца. Эти результаты открывают путь к дальнейшему обсуждению показаний, схемы и дозирования лактоферрина для новорожденных детей.

РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ ЛАКТОФЕРРИНОМ ЧЕЛОВЕКА И ЛАКТОФЕРРИНОМ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Известно, что по набору аминокислот человеческий и коровий лактоферрины совпадают лишь на 67% [54, 55]. Различия в первичной структуре лактоферринов обуславливают формирование разной вторичной и третичной структуры этих белков, что может определять их функциональные особенности [56]. В частности, найдены различия в строении рецепторов некоторых органов и тканей человека к обоим лактоферринам. Установлено, что рецепторы тонкой кишки человека более специфичны к белку человека, чем к коровьему [57]. Оптимальный показатель pH для связывания нативного лактоферрина со специфическими рецепторами равен 6,5–7,5, что соответствует значению pH тонкой кишки новорожденных детей. Предполагаемой функцией рецепторов тонкой кишки к лактоферрину является содействие всасыванию железа. Рецепторы к белку человека, аналогичные рецепторам тонкой кишки, удалось найти в слюнных железах, сердце, скелетных мышцах, надпочечниках, поджелудочной железе [58]. Два других типа специфических рецепторов к лактоферрину человека найдены в печени: рецепторный белок липопротеидов низкой плотности (LRP) и асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR) [58].

Образующиеся при расщеплении лактоферринов лактоферрицины у человека и коров различаются как по аминокислотному составу, так и по биологической активности [57]. Различия между двумя белками имеются и в особенностях гликозилирования, которое, как известно, существенно влияет на активность белка *in vivo*. Сравнение триптического протеолиза коровьего лактоферрина и лактоферрина человека показало, что последний примерно в 100 раз более устойчив, чем коровий [59, 60].

Применение коровьего лактоферрина в педиатрической практике пока не нашло широкого распространения, поскольку полученные результаты его использования оказались весьма неоднозначными, что связано с различной степенью чистоты белка [30]. Кроме того, коровий белок — ксеноген для человека. Очевидно, что в организме человека реализация защитных функций лактоферрина человека и коровьего, проявленная *in vitro*, может существенно различаться в зависимости от кооперации с другими бактерицидными белками человека. Кроме того, результаты использования коровьего белка в значительной степени связаны с технологиями промышленного выделения этого белка из молока. Коммерческие образцы коровьего лактоферрина имеют разную концентрацию активного белка и степень его очистки. При использовании коровьего лактоферрина в российских педиатрических учреждениях необходимо будет иметь промышленную технологию получения высококачественного белка.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА

В фокусе научных интересов российских ученых и клиницистов, занимающихся проблемой лактоферрина, традиционными были исследования именно природного белка, выделенного из женского молока, с возможностью

его дальнейшего медицинского использования. Были получены положительные результаты в экспериментальных исследованиях на животных и в клинике [61, 62]. Однако, производство пищевых продуктов и лекарственных средств на основе лактоферрина, выделенного из женского молока, практически неосуществимо из-за невозможности его получения в промышленных масштабах. В связи с этим была поставлена задача по получению высокоактивного и биологически безопасного лактоферрина человека с использованием методов современной биотехнологии. С этой целью в 2004–2013 гг. была успешно реализована межгосударственная (Россия-Беларусь) программа по разработке биотехнологии получения рекомбинантного лактоферрина человека [63].

Ранее рекомбинантный лактоферрин человека получали в различных системах: растениях, микроскопических грибах, с использованием молочных животных [64–67]. Рассматриваемый белок гликозилирован, поэтому лучшими его продуцентами являются млекопитающие, в клетках которых имеется соответствующий механизм гликозилирования.

В Институте биологии гена РАН на основе использования имеющихся теоретических разработок были созданы генетические конструкторы с геном лактоферрина человека, поставленные под контроль тканеспецифических «молочных» промоторов, обеспечивающие экономически значимую продукцию рекомбинантного лактоферрина человека с молоком генно-инженерных животных [68]. Для их получения был использован метод микроинъекции генов в зиготы, которые затем пересаживались женским особям животных — суррогатным матерям. Если в результате этой манипуляции ген человека встраивался в геном животных, то они становились продуцентами соответствующего белка с молоком.

На первом этапе были получены мыши, продуцирующие с молоком рекомбинантный лактоферрин человека, который по физико-химическим параметрам и биологической активности оказался соответствующим природному белку [69]. При этом экспериментальные животные, продуцирующие рекомбинантный белок человека на протяжении 10 поколений, отличались хорошим здоровьем и нормальной воспроизводительной способностью, даже в тех размножаемых линиях, в которых мыши имели наибольший уровень продукции с молоком белка интереса (50–100 г/л).

На втором этапе в качестве промышленных продуцентов с молоком рекомбинантного лактоферрина человека были использованы козы. Козы — неприхотливый вид сельскохозяйственных животных — были выбраны в связи с тем, что у них короткий репродуктивный период и относительно высокий уровень выработки молока, достигающий у высокопродуктивных племенных особей более 1000 л за лактацию. Кроме того, козы не имеют общих с человеком заболеваний. Продукция лактоферрина человека с молоком коз составляла до 10 г/л [68]. Поскольку при создании генетических конструкторов не были использованы какие-либо последовательности ДНК, которые могли бы впоследствии оказаться опасными для человека, ни в молоке животных-продуцентов, ни в выделенном из него белке не содержится ГМО-элементов [69, 70]. Согласно проведенным исследованиям, как по физико-химическим параметрам, так и по биологической активности лактоферрин, выделенный из молока коз-продуцентов, соответствовал природному белку человека [71].

В исследованиях, выполненных в ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России, было показано выраженное противомикробное действие полу-

ченного рекомбинантного лактоферрина человека в отношении изолятов антибиотикоустойчивых микроорганизмов, взятых из носоглотки 420 пациентов разного возраста с различными хроническими воспалительными процессами верхних дыхательных путей: частыми простудными заболеваниями носоглотки, с герпетическими поражениями, длительным субфебрилитетом, дисбактериозом слизистых оболочек и характерными признаками сниженного иммунитета (содержание CD4+-клеток — менее 600 в мкл и общего числа лейкоцитов — менее 4,5 в мкл, содержание иммуноглобулина А — более 3,0 г/л, у 32 пациентов увеличение HLA-DR-клеток было более 20% в мкл). Полученные результаты показали, что лактоферрин, выделенный из молока коз-продуцентов, подавляет рост изолятов *Staphylococcus aureus*, у которых устойчивость к гликопептидам сочеталась с устойчивостью к одному или нескольким наиболее часто назначаемым антибиотикам. При этом совместное использование полученного лактоферрина с антибиотиками многократно усиливало эффект их действия [72]. Установлено также, что рекомбинантный белок не накапливается в организме, совместим практически со всеми продуктами питания и лекарственными средствами, стимулирует естественный иммунитет [73].

Эффективность лактоферрина против антибиотикорезистентных патогенов открывает перспективу использования его в первую очередь для профилактики развития септических состояний у недоношенных детей, родившихся с низкой и экстремально низкой массой тела, а также санации их матерей и персонала родильных домов и перинатальных центров для предупреждения возникновения внутрибольничных инфекций.

В настоящее время интерес к лактоферрину человека связан с возможностью промышленного биопроизводства этого бактерицидного белка и создания на его основе новых продуктов функционального питания, высокоэффективных и биологически безопасных лекарственных средств нового поколения противoinфекционной направленности, в том числе для клинической и практической педиатрии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интерес мирового сообщества ученых к изучению свойств лактоферрина основан прежде всего на его выраженных антибактериальных, противовирусном и противогрибковом механизмах действия. Основным механизмом бактериостатической активности лактоферрина связан не только со снижением уровня железа в слизистой оболочке кишечника, но и с его способностью разрушать мембраны грамотрицательных и грамположительных патогенных микроорганизмов. Кроме того, в результате протеолиза лактоферрина образуются лактоферрицины, обладающие еще большей избирательной антибактериальной активностью по отношению к определенным микроорганизмам, чем нативная молекула лактоферрина. Важным свойством лактоферрина в отличие от других известных антимикробных средств является отсутствие у него таких побочных эффектов, как нарушение состава микрофлоры кишечника и снижение усвояемости макро- и микронутриентов. К сожалению, в настоящее время промышленного препарата лактоферрина человека на рынке нет. Производство лекарственных средств на основе лактоферрина, выделенного из женского молока, неосуществимо из-за невозможности его получения в промышленных масштабах. Поэтому в зарубежной клинической практике пока используется лактоферрин, выделенный из коровьего молока. В ряде стран уже проведены клинические исследования по использованию этого лактоферрина для предупреждения инфекционной патологии в педиатрии. Однако,

по химической структуре коровий лактоферрин отличается от лактоферрина человека, что снижает его биологическую активность в человеческом организме. Перспективным является практическое использование в педиатрии полученного в России с помощью методов современной биотехнологии высокоактивного и биологически безопасного рекомбинантного лактоферрина человека.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Л. С. Намазова-Баранова — получение исследовательских грантов от фармацевтических компаний Пьер Фабр,

Genzyme Europe B.V., ООО «Астразенека Фармасьютикалз», Gilead / PRA «Фармасьютикал Рисерч Ассошиэйтс СиАйЭс», Teva Branded Pharmaceutical products R&D, Inc / ООО «ППД Девелопмент (Смоленск)», «Сталлержен С.А.» / «Квинтайлс ГезмбХ» (Австрия).

Остальные авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Л. С. Намазова-Баранова <http://orcid.org/0000-0002-2209-7531>

Т. Э. Боровик <http://orcid.org/0000-0002-0603-3394>

О. Л. Лукоянова <http://orcid.org/0000-0002-5876-691X>

Н. Г. Звонкова <http://orcid.org/0000-0002-0709-1115>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. amr-review [Internet]. The review on antimicrobial resistance. O'Neill J, reviewer. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. 2016 [cited 2016 Nov 9]. Available from: <https://amr-review.org>.
2. *Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии* / Под ред. Стречунского Л.С., Белоусова Ю.Б., Козлова С.Н. — М.: Боррес; 2002. — 379 с. [*Prakticheskoe rukovodstvo po antiinfektsionnoi khimioterapii*. Ed by Strachunskii L.S., Belousov Yu.B., Kozlov S.N. Moscow: Borges; 2002. 379 p. (In Russ).]
3. Warren S, Garcia M, Hankins C. Impact of neonatal early onset sepsis calculator on antibiotic use within two tertiary healthcare centers. *J Perinatol*. 2016. doi: 10.1038/jp.2016.236.
4. Kristof K, Szabo D, Marsh JW, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella* spp. in a neonatal intensive care unit: risk factors for the infection and the dynamics of the molecular epidemiology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007;26(8):563–570. doi: 10.1007/s10096-007-0338-9.
5. Farnaud S, Evans RW. Lactoferrin a multifunctional protein with antimicrobial properties. *Mol Immunol*. 2003;40(7):395–405. doi: 10.1016/s0161-5890(03)00152-4.
6. Manzoni P, Tarnow-Mordi W, Franco C, et al. Clinical use of lactoferrin in preterm neonates: an update. *Minerva Pediatr*. 2010;62(3 Suppl 1):101–104.
7. Aumuller G, Riva A. Morphology and functions of the human seminal vesicle. *Andrologia*. 1992;24(4):183–196. doi: 10.1111/j.1439-0272.1992.tb02636.x.
8. Ward PP, Paz E, Conneely OM. Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cell Mol Life Sci*. 2005;62(22):2540–2548. doi: 10.1007/s00018-005-5369-8.
9. Vorland LH. Lactoferrin: a multifunctional glycoprotein. *APMIS*. 1999; 107(7–12):971–981. doi: 10.1111/j.1699-0463.1999.tb01499.x.
10. Somm E, Larvaron P, van de Looij Y, et al. Protective effects of maternal nutritional supplementation with lactoferrin on growth and brain metabolism. *Pediatr Res*. 2014;75(1–1):51–61. doi: 10.1038/pr.2013.199.
11. Zhang Y, Wang X, Qiu Y, et al. Effect of indomethacin and lactoferrin on human tenocyte proliferation and collagen formation in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;454(2):301–307. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.10.061.
12. Pietrantonio A, Ammendolia MG, Superti F. Bovine lactoferrin: involvement of metal saturation and carbohydrates in the inhibition of influenza virus infection. *Biochem Cell Biol*. 2012;90(3): 442–448. doi: 10.1139/o11-072.
13. Berlutti F, Pantanella F, Natalizi T, et al. Antiviral properties of lactoferrin — a natural immunity molecule. *Molecules*. 2011; 16(8):6992–7018. doi: 10.3390/molecules16086992.
14. Ochoa TJ, Sizonenko SV. Lactoferrin and prematurity: a promising milk protein? *Biochem Cell Biol*. 2016;1–9. doi: 10.1139/bcb-2016-0066. Forthcoming 2016.
15. Buckett WM, Luckas MJ, Gazvani MR, et al. Seminal plasma lactoferrin concentrations in normal and abnormal semen samples. *J Androl*. 1997;18(3):302–304. doi: 10.1002/j.1939-4640.1997.tb01923.x.
16. Steijns JM, van Hooijdonk AC. Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin. *Br J Nutr*. 2000;84(Suppl 1):11–17. doi: 10.1017/s0007114500002191.
17. Lonnerdal B. Bioactive proteins in human milk: mechanisms of action. *J Pediatr*. 2010;156(2 Suppl):26–30. doi: 10.1016/j.jpeds.2009.11.017.
18. Gomez HF, Ochoa TJ, Carlin LG, Cleary TG. Human lactoferrin impairs virulence of *Shigella flexneri*. *J Infect Dis*. 2003;187(1): 87–95. doi: 10.1086/345875.
19. Gomez HF, Ochoa TJ, Herrera-Insua I, et al. Lactoferrin protects rabbits from *Shigella flexneri*-induced inflammatory enteritis. *Infect Immun*. 2002;70(12):7050–7053. doi: 10.1128/IAI.70.12.7050-7053.2002.
20. Oda H, Wakabayashi H, Yamauchi K, Abe F. Lactoferrin and bifidobacteria. *Biometals*. 2014;27(5):915–922. doi: 10.1007/s10534-014-9741-8.
21. Ochoa TJ, Noguera-Obenza M, Ebel F, et al. Lactoferrin impairs type III secretory system function in enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2003;71(9):5149–5155. doi: 10.1128/IAI.71.9.5149-5155.2003.
22. Bruni N, Capucchio MT, Biasibetti E, et al. Antimicrobial activity of lactoferrin-related peptides and applications in human and veterinary medicine. *Molecules*. 2016;21(6):E752. doi: 10.3390/molecules21060752.
23. Sherman MP, Bennett SH, Hwang FF, Yu C. Neonatal small bowel epithelia: enhancing anti-bacterial defense with lactoferrin and *Lactobacillus GG*. *Biometals*. 2004;17(3):285–289. doi: 10.1023/b:biom.0000027706.51112.62.
24. Valenti P, Visca P, Antonini G, Orsi N. Interaction between lactoferrin and ovotransferrin and *Candida* cells. *FEMS Microbiol Lett*. 1986; 33(2–3):271–275. doi: 10.1111/j.1574-6968.1986.tb01285.x.
25. Nikawa H, Samaranayake LP, Tenovuo J, et al. The fungicidal effect of human lactoferrin on *Candida albicans* and *Candida krusei*. *Arch Oral Biol*. 1996;38(12):1057–1063.
26. Nikawa H, Samaranayake LP, Hamada T. Modulation of the anti-*Candida* activity of apo-lactoferrin by dietary sucrose and tunicamycin in vitro. *Arch Oral Biol*. 1995;40(6):581–584. doi: 10.1016/0003-9969(94)00195-H.
27. Ueno H, Sato T, Yamamoto S, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of bovine lactoferrin in patients with chronic hepatitis C. *Cancer Sci*. 2006;97(10):1105–1110. doi: 10.1111/j.1349-7006.2006.00274.x.
28. 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. doi: 10.1139/o01-239.
29. Rodrigues L, Teixeira J, Schmitt F, et al. Lactoferrin and cancer disease prevention. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2009;49(3):203–217. doi: 10.1080/10408390701856157.
30. Lonnerdal B. Infant formula and infant nutrition: bioactive proteins of human milk and implications for composition of infant formulas. *Am J Clin Nutr*. 2014;99(3):712–717. doi: 10.3945/ajcn.113.071993.
31. Walker A. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. *J Pediatr*. 2010;156(2 Suppl):3–7. doi: 10.1016/j.jpeds.2009.11.021.
32. *Global strategy for infant and young child feeding: the optimal duration of exclusive breastfeeding*. Geneva: World Health Organization; 2001.
33. Легонькова Т.И., Сенюхина Н.М., Дейнеко О.Я. *Питание здоровых детей*. — Смоленск: СГМА; 2000. — 67 с. [Lego'n'kova TI, Senyukhina NM, Deineko OYa. *Pitanie zdorovykh detei*. Smolensk: SGMA; 2000. 67 p. (In Russ).]
34. Stuebe AM, Schwarz EB. The risks and benefits of infant feeding practices for women and their children. *J Perinatol*. 2010;30(3): 155–162. doi: 10.1038/jp.2009.107.
35. WHO Collaborative Study Team on the Role of Breastfeeding on the Prevention of Infant Mortality. Effect of breastfeeding on infant and child mortality due to infectious diseases in less developed countries: a pooled analysis. *Lancet*. 2000;355(9202):451–455. doi: 10.1016/S0140-6736(00)82011-5.

36. Montagne P, Cuilliere ML, Mole C, et al. Changes in lactoferrin and lysozyme levels in human milk during the first twelve weeks of lactation. *Adv Exp Med Biol.* 2001;501:241–247. doi: 10.1007/978-1-4615-1371-1_30.
37. Masson PL, Heremans JF. Lactoferrin in milk from different species. *Comp Biochem Physiol B.* 1971;39(1):119–129.
38. Villavicencio A, Rueda MS, Turin CG, Ochoa TJ. Factors affecting lactoferrin concentration in human milk: how much do we know? *Biochem Cell Biol.* 2016;4:1–10. doi: 10.1139/bcb-2016-006.
39. Rai D, Adelman AS, Zhuang W, et al. Longitudinal changes in lactoferrin concentrations in human milk: a global systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014;54(12):1539–1547. doi: 10.1080/10408398.2011.642422.
40. Dabrowski S, Demkow U, Podsiadly E. [Presence of lactoferrin in faeces as the indicator of Clostridium difficile in pediatric patients. (In Polish).] *Med Dosw Mikrobiol.* 2015;67(1):1–8.
41. Hirai Y, Kawakata N, Satoh K, et al. Concentrations of lactoferrin and iron in human milk at different stages of lactation. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 1990;36(6):531–544. doi: 10.3177/jnsv.36.531.
42. Davidson LA, Lonnerdal B. Persistence of human milk proteins in the breast-fed infant. *Acta Paediatr Scand.* 1987;76(5):733–740. doi: 10.1111/j.1651-2227.1987.tb10557.x.
43. Muller MJ, Paul T, Seeliger SJ. Necrotizing enterocolitis in premature infants and newborns. *Neonatal Perinatal Med.* 2016;9(3):233–242. doi: 10.3233/NPM-16915130.
44. Simonsen KA, Anderson-Berry AL, Delair SF, Davies HD. Early-onset neonatal sepsis. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(1):21–47. doi: 10.1128/CMR.00031-13.
45. PUMHS. Lactoferrin levels in mother's milk. *Professional Med J.* 2012;19(4):527–530.
46. Cheng JB, Wang JQ, Bu DP, et al. Factors affecting the lactoferrin concentration in bovine milk. *J Dairy Sci.* 2008;91(3):970–976. doi: 10.3168/jds.2007-0689.
47. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific opinion on bovine lactoferrin. *EFSA Journal.* 2012;10(5):2701. doi: 10.2903/j.efsa.2012.2701.
48. Velden WJ, van Iersel TM, Blijlevens NM, Donnelly JP. Safety and tolerability of the antimicrobial peptide human lactoferrin 1-11 (hLF1-11). *BMC Med.* 2009;7:44. doi: 10.1186/1741-7015-7-44.
49. fda.gov [Internet]. FDA GRAS Notification as GRN 000042. Generally Recognized as Safe Determination for Bovine Lactoferrin. 2001 [cited 2016 Nov 9]. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm266172.pdf>.
50. Патент РФ на изобретение №21-6785. Юки Й., Теразава К., Накагава Т., Кате К. «Способ получения продукта, содержащего активные молочные белковые компоненты, и продукт, полученный этим способом (варианты)». [Patent RUS №21-6785. Yuki I, Terazawa K, Nakagawa T, Kate K. «Sposob polucheniya produkta, soderzhashchego aktivnyye molochno-belkovyye komponenty, i produkt, poluchennyi etim sposobom (varianty)». (In Russ.)]
51. Патент РФ на изобретение №2366294. Бул. №36 от 27.12.2014. Семенов Г.В., Тихомирова Н.А., Кололова Г.С., Овчинникова О.Е. «Способ получения биологически активной добавки «мобелиз» и полученная этим способом БАД «мобелиз»». [Patent RUS №2366294. Byul. №36. Semenov GV, Tikhomirova NA, Komolova GS, Ovchinnikova OE. «Sposob polucheniya biologicheskii aktivnoi dobavki «mobeliz» i poluchennaya etim sposobom BAD «mobeliz»». (In Russ.)]
52. Manzoni P. Clinical benefits of lactoferrin for infants and children. *J Pediatr.* 2016;173 Suppl:S43–52. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.02.075.
53. urin CG, Zea-Vera A, Pezo A, et al. Lactoferrin for prevention of neonatal sepsis. *Biometals.* 2014;27(5):1007–1016. doi: 10.1007/s10534-014-9754-3.
54. Vogel HJ. Lactoferrin, a bird's eye view. *Biochem Cell Biol.* 2012;90(3):233–244. doi: 10.1139/o2012-016.
55. Tomita M, Wakabayashi H, Shin K, et al. Twenty-five years of research on bovine lactoferrin applications. *Biochimie.* 2009;91(1):52–57. doi: 10.1016/j.biochi.2008.05.021.
56. King JC Jr, Cummings GE, Guo N, et al. A double-blind, placebo-controlled, pilot study of bovine lactoferrin supplementation in bottle-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007;44(2):245–251. doi: 10.1097/01.mpg.0000243435.54958.68.
57. Suzuki YA, Lopez V, Lonnerdal B. Mammalian lactoferrin receptors: structure and function. *Cell Mol Life Sci.* 2005;62(22):2560–2575. doi: 10.1007/s00018-005-5371-1.
58. Troost FJ, Steijns J, Saris WH, Brummer RJ. Gastric digestion of bovine lactoferrin in vivo in adults. *J Nutr.* 2001;131(8):2101–2104.
59. Smith CA, Anderson BF, Baker HM, Baker EN. Metal substitution in transferrins: the crystal structure of human copper-lactoferrin at 2.1-Å resolution. *Biochemistry.* 1992;31(18):4527–4533. doi: 10.1021/bi00133a020.
60. van Veen HA, Geerts ME, van Berkel PH, Nuijens JH. The role of N-linked glycosylation in the protection of human and bovine lactoferrin against tryptic proteolysis. *Eur J Biochem.* 2004;271(4):678–684. doi: 10.1111/j.1432-1033.2003.03965.x.
61. Якубовская Р.И., Немцова Е.Р., Коханова И.Д., и др. Лактоферрин человека: получение высокоочищенных препаратов из молока женщин, некоторые физико-химические свойства и распределение в нормальных и опухолевых тканях // *Вопросы медицинской химии.* — 1986. — Т. 32. — № 6 — С. 75–79. [Yakubovskaya RI, Nemtsova ER, Kokhanova ID, et al. Laktoferrin cheloveka: polucheniye vysokochishchennykh preparatov iz moloka zhenshchin, nekotorye fiziko-khimicheskie svoystva i raspredeleniye v normal'nykh i opukholyevykh tkanyakh. *Vopr Med Khim.* 1986;32(6):75–79. (In Russ.)]
62. Патент РФ на изобретение №2165769. Чиссов В.И., Якубовская Р.И., Немцова Е.Р., и др. Антибактериальный, антиоксидантный, иммуномодулирующий и антиканцерогенный препарат и способ его применения. [Patent RUS №2165769. Chissov VI, Yakubovskaya RI, Nemtsova ER, et al. Antibakterial'nyi, antioksidantnyi, immunomoduliruyushchii i antikantserogennyi preparat i sposob ego primeneniya. (In Russ.)] Доступно по: <http://ru-patent.info/21/65-69/2165769.html>. Ссылка активна на 12.12.2016.
63. Постановление Совета Министров Союзного государства от 21 октября 2014 г. № 28 «Об итогах выполнения научно-технической программы Союзного государства «БелРосТрансген-2 на 2009–2013 гг.». [Council of Ministers Decision No 28 «Ob itogakh vypolneniya nauchno-tekhnicheskoi programmy Soyuznogo gosudarstva «BelRosTransgen-2 na 2009–2013» dated 2014 Oct 21. (In Russ.)]
64. Suzuki YA, Kelleher SL, Yalda D, et al. Expression, characterization, and biologic activity of recombinant human lactoferrin in rice. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003;36(2):190–199. doi: 10.1097/00005176-200302000-00007.
65. Ward PP, Lo JY, Duke M, et al. Production of biologically active recombinant human lactoferrin in *Aspergillus oryzae*. *Biotechnology (N Y).* 1992;10(7):784–789. doi: 10.1038/nbt0792-784.
66. Han ZS, Li QW, Zhang ZY, et al. High-level expression of human lactoferrin in the milk of goats by using replication-defective adenoviral vectors. *Protein Expr Purif.* 2007;53(1):225–231. doi: 10.1016/j.pep.2006.11.019.
67. van Berkel PH, Welling MM, Geerts M, et al. Large scale production of recombinant human lactoferrin in the milk of transgenic cows. *Nat Biotechnol.* 2002;20(5):484–487. doi: 10.1038/nbt0502-484.
68. Goldman IL, Georgieva SG, Gurskiy YG, et al. Production of human lactoferrin in animal milk. *Biochem Cell Biol.* 2012;90(3):513–519. doi: 10.1139/o11-088.
69. Дейкин А.В., Ермошкевич Т.Г., Гурский Я.Г., и др. Состояние здоровья и воспроизводительная способность трансгенных мышей, продуцирующих с молоком рекомбинантный белок человека лактоферрин // *Доклады Академии наук.* — 2009. — Т. 427. — № 4 — С. 545–548. [Deykin AV, Ermolkevich TG, Gurskiy YG, et al. The state of health and the reproductive potential of transgenic mice secreting recombinant human lactoferrin in milk. *Dokl Akad Nauk.* 2009;427(4):545–548. (In Russ.)]
70. Гольдман И.Л., Кадулин С.Г., Разин С.В. Трансгенные козы в мировой фарминдустрии XXI в. // *Генетика.* — 2002. — Т. 38. — № 1 — С. 5–21. [Goldman IL, Kadulin SG, Razin SV. Transgenic goats in the world pharmaceutical industry of the 21st century. *Genetika.* 2002;38(1):5–21. (In Russ.)]
71. Соколов А.В., Пулина М.О., Кристьян А.В., и др. Исследование рекомбинантного лактоферрина человека, секретируемого в молоко трансгенных мышей // *Доклады Академии наук.* — 2006. — Т. 411. — № 1 — С. 336–338. [Sokolov AV, Pulina MO, Kristiyan AV, et al. A study of recombinant human lactoferrin secreted in milk of transgenic mice. *Dokl Akad Nauk.* 2006;411(1):336–338. (In Russ.)]
72. Goldman I, Chernousov A, Sadchikova E. *Application potential of recombinant human lactoferrin in antibiotic-resistant infection control.* In: Anninos P, Rossi M, Pham TD, et al, editors. *Resent advances in clinical medicine.* Cambridge: WSEAS Press; 2010. p. 315–321.
73. Черноусов А.Д., Никонова М.Ф., Шарова Н.И., и др. Неолактоферрин как стимулятор врожденного и адаптивного иммунитета // *Acta Naturae.* — 2013. — Т. 5. — № 4 — С. 67–73. [Chernousov AD, Nikonova MF, Sharova NI, et al. Neolactoferrin as a stimulator of innate and adaptive immunity. *Acta Naturae.* 2013;5(4):67–73. (In Russ.)]