

DOI: 10.15690/pf.v14i3.1741

И.Б. Бродский^{1, 2}, А.В. Васильев³, А.В. Копыченкова⁴, И.Л. Гольдман¹, П.Е. Садчиков⁵, Л.С. Намазова-Баранова^{5, 6}, Т.Э. Боровик⁵, О.Л. Лукоянова⁵, Г.В. Яцык⁵, Е.Р. Садчикова¹¹ Институт биологии гена РАН, Москва, Российская Федерация² НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация³ Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Российская Федерация⁴ Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболensk, Российская Федерация⁵ Национальный научно-практический центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация⁶ Российский научный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

Бифидогенные свойства биотехнологического аналога лактоферрина человека

Контактная информация:

Садчиков Павел Евгеньевич, аспирант Национального научно-практического центра здоровья детей

Адрес: 119991; Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 132-26-00, e-mail: p.e.sadchikov@gmail.com

Статья поступила: 07.03.2017 г., принята к печати: 30.06.2017 г.

173

Обоснование. Новейшие исследования показывают, что рост и развитие желудочно-кишечного тракта детей, вскармливаемых материнским молоком, происходит интенсивнее, чем у вскармливаемых молочными смесями, поскольку содержащийся в нем лактоферрин человека является фактором, стимулирующим клеточный рост. Именно поэтому возможность использования экзогенного лактоферрина будет иметь большую значимость в питании грудных детей. **Цель исследования** — изучить бифидогенные свойства биотехнологического аналога лактоферрина человека. **Методы.** Определялась кинетика роста и КОЕ-титр культивирования бифидобактерий в присутствии биотехнологического аналога лактоферрина человека. **Результаты.** Показано, что различные концентрации данного белка (0,05–5 мг/мл) могут оказывать как стимулирующее (для *Bifidobacterium bifidum* и *Bifidobacterium infantis*), так и ингибирующее (для *Bifidobacterium longum*) действие в отношении роста бифидобактерий, что обусловлено аффинностью связывания с ними лактоферрина. Представляется важным дальнейшее изучение стимулирующего эффекта этого белка на рост лактобацилл в кишечнике ребенка. **Заключение.** Благодаря бифидогенному и выраженному бактерицидному действию лактоферрин может быть использован в лечебном питании новорожденных.

Ключевые слова: биотехнологический аналог лактоферрина человека, бифидобактерии, новорожденные, вскармливание.

(Для цитирования: Бродский И.Б., Васильев А.В., Копыченкова А.В., Гольдман И.Л., Садчиков П.Е., Намазова-Баранова Л.С., Боровик Т.Э., Лукоянова О.Л., Яцык Г.В., Садчикова Е.Р. Бифидогенные свойства биотехнологического аналога лактоферрина человека. *Педиатрическая фармакология*. 2017; 14 (3): 173–178. doi: 10.15690/pf.v14i3.1741)

ОБОСНОВАНИЕ

Новорожденные дети, находящиеся на искусственном вскармливании, лишены естественной защиты бактерицидными белками грудного молока, что является одним из факторов риска развития диареи и связанной с ней генерализации инфекции [1]. Одним из возможных способов предотвращения этой патологии является использование донорского молока и отдельных содержащихся в нем иммунных белков, среди которых важную роль бактерицидного и иммуномодулирующего компонента играет лактоферрин [2]. В последние годы лактоферрин, выделенный из коровьего молока, в ряде стран стали использовать в составе детского питания [3]. Однако, этот белок по некоторым параметрам отличается от природного лактоферрина грудного молока [4], что ограничивает его широкое использование. В Институте биологии гена РАН в рамках реализации программ Союзного государства (Россия-Белоруссия) с молоком генно-инженерных коз был получен лактоферрин человека, который по физико-химическим параметрам и биологической активности оказался идентичным при-

родному белку [5, 6]. Было установлено, что биотехнологический аналог лактоферрина человека обладает выраженным бактерицидным действием, в том числе и в отношении антибиотикостойчивой микробиоты [7]. При использовании сочетания лактоферринов человека (90%) и козы (10%), присутствующих в молоке генно-инженерных коз, установлена стимуляция врожденного и адаптивного иммунитета за счет активации иммунокомпетентных клеток в клеточных культурах [8].

Поскольку в будущем предполагается широкое использование биотехнологического аналога лактоферрина человека как компонента заменителей грудного молока для вскармливания детей грудного возраста, возникла необходимость исследования действия этого белка на бифидобактерии, присутствующие в нормально функционирующем желудочно-кишечном тракте детей первого года жизни [9].

Ранее проведенными исследованиями было показано, что бифидобактерии могут быть устойчивы к антибактериальному действию лактоферрина; более того, данный белок может стимулировать их рост [10]. Между тем результаты этих исследований часто были противо-

речивы в эффекте влияния, так как различные виды бифидобактерий могут по-разному (одни ускоряют свой рост, другие замедляют) реагировать на присутствие лактоферрина в среде культивирования. По-видимому, определяющим фактором при этом является происхождение лактоферрина [11]. Кроме того, известно, что гидролизаты разных лактоферринов имеют отличия от нативного белка [12]. При этом степень насыщенности лактоферрина железом не играет существенной роли в отношении роста бифидобактерий [11, 13].

Следует отметить, что большинство выполненных к настоящему времени исследований были проведены с использованием бычьего (ксеногенного) варианта белка лактоферрина [10]. Между тем хорошо известно, что по набору аминокислот лактоферрины крупного рогатого скота и человека совпадают лишь на 67% [14]. Различия в первичной структуре этих белков обуславливают формирование у них разной вторичной и третичной структуры, что может определять их функциональные особенности [15]. Образующиеся при расщеплении лактоферринов крупного рогатого скота и человека лактоферрицины различны как по аминокислотному составу, так и по биологической активности [16]. Различия между лактоферринами имеются и в видовых особенностях гликозилирования [17], которое, как известно, существенно влияет на активность белка. Учитывая присутствие в кишечнике человека специфических к лактоферрину человека рецепторов [14], следует ожидать, что использование биотехнологического аналога лактоферрина человека в педиатрической практике может оказаться более выраженным в отношении проявления его биологической активности и эффективности связывания со специфическими рецепторами, в том числе и в составе комплексных пробиотических препаратов.

Целью настоящего исследования явилось изучение бифидогенных свойств биотехнологического аналога лактоферрина человека.

МЕТОДЫ

Лактоферрин

Использован биотехнологический аналог лактоферрина человека (рчЛФ) (Институт биологии гена РАН, Россия). Для проведения стерилизующей фильтрации навеску белка растворяли в фосфатном буферном растворе для получения раствора 50 мг/мл, который фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм (Millipore, США).

Культуры бифидобактерий

В исследование были взяты *Bifidobacterium bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. adolescentis* и *B. longum* (АО «Партнер», Россия).

Культивирование бифидобактерий

Для определения кинетики роста бифидобактерий использовалась питательная среда MPC-1 (АО «Партнер», Россия). Состав среды (на 1 л): марганец серноокислый 4-водный 0,050 г, L-цистеин солянокислый 0,2 г, магний серноокислый 7-водный 0,20 г, калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный 2,0 г, глюкоза 20 г, дрожжевой аутолизат с содержанием аминокислот азота 0,15% 50 мл, аммоний лимоннокислый 2,0 г, ацетат натрия 5,0 г, твин 80 1,0 мл, пептон ферментативный сухой 10,0 г, панкреатический гидролизат казеина 500 мл, вода до 1 л, pH среды после стерилизации — 6,2–6,4. Перед применением питательную среду нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин для удаления растворенного кислорода. После нагревания среды к ней добавляли стерильное минеральное масло для образования верхнего слоя толщиной около 1–2 см.

Для культивирования бифидобактерий использовали посевной материал в виде предварительно выращенной в 300 мл среды MPC-1 культуры бифидобактерий с титром около 10^8 КОЕ/мл. Посевной материал засеивали в количестве 15 мл (5%) от объема среды культивиро-

Ilya B. Brodsky^{1, 2}, Andrey V. Vasiliev³, AV Kopychenkova⁴, Igor L. Goldman¹, Petr E. Sadchikov⁵, Leyla S. Namazova-Baranova^{5,6}, Tatyana E. Borovik⁵, Olga L. Lukoyanova⁵, Galina V. Yatsyk⁵, Elena R. Sadchikova¹

¹ Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

² A.N. Belozersky Institute Of Physico-Chemical Biology of Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

³ Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russian Federation

⁴ State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation

⁵ National Scientific and Practical Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

⁶ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Bifidogenic Properties of a Biotechnological Analogue of Human Lactoferrin

Background: Recent research shows that the growth and development of the gastrointestinal tract of children fed by breast milk is more intense than that of the formula fed, since the human lactoferrin contained in the breast milk is a factor that stimulates cell growth. Therefore, the possibility of using exogenous lactoferrin will be of great importance in the nutrition of infants. **Objective:** To study the bifidogenic properties of the biotechnological analogue of human lactoferrin. **Methods:** Kinetics of growth and CFU titer of bifidobacterial culture in the presence of a biotechnological analogue of human lactoferrin (0,05–5 mg/ml) was determined. **Results:** It has been shown that different concentrations of the protein can have both a stimulating (for *B. bifidum* and *B. infantis*) and inhibitory (for *B. longum*) effect on the growth of bifidobacteria, which is due to the affinity of lactoferrin binding to them. It seems important to further study the stimulating effect of this protein on the growth of lactobacilli in the intestine of the child. **Conclusion:** Due to bifidogenic and high bactericidal action, lactoferrin can be effective in feeding newborns.

Key words: biotechnological analogue of human lactoferrin, bifidobacteria, newborns, feeding.

(For citation: Brodsky Ilya B., Vasiliev Andrey V., Kopychenkova A.V., Goldman Igor L., Sadchikov Petr E., Namazova-Baranova Leyla S., Borovik Tatyana E., Lukoyanova Olga L., Yatsyk Galina V., Sadchikova Elena R. Bifidogenic Properties of a Biotechnological Analogue of Human Lactoferrin. *Pediatricskaya farmakologiya — Pediatric pharmacology*. 2017; 14 (3): 173–178. doi: 10.15690/pf.v14i3.1741)

вания. Бактерии растили в бутылках с 300 мл среды MPC-1 под слоем масла для обеспечения анаэробных условий в течение 24 ч без перемешивания при температуре 37°C, отбирая образцы по 1 мл для определения оптической плотности. Перед каждым забором суспензии для измерения оптической плотности среду плавно перемешивали круговыми движениями для образования гомогенной суспензии. Оптическую плотность суспензии (OD) микроорганизмов измеряли при 540 нм, где в качестве контроля использовали среду MPC-1, образцы которой разбавляли фосфатным буферным раствором до OD 0,3–0,4 для обеспечения точности измерения. Оптическую плотность культуры, измеренную сразу после внесения посевного материала, принимали за 100%, в дальнейшем величины OD пересчитывали относительно данной величины, получая относительные величины OD.

Определение титра КОЕ бифидобактерий

Применяли скрининговый метод оценки стимулирующих свойств белка, для чего использовали среду Блаурокка с различными концентрациями рчЛФ. В данную среду высевали исследуемые бактерии до предельного разведения, где должны были вырасти единичные колонии.

Для определения титра КОЕ бифидобактерий исходные образцы лиофилизированных культур растворяли в 100 мл фосфатного буферного раствора и далее титровали методом десятикратных разведений, перенося 1 мл полученного раствора в пробирку с 9 мл среды Блаурокка в модификации Гончаровой [18] и далее таким образом до разведения 10^{-8} . В качестве учетных разведений использовали две последние пробирки, где наблюдался рост. Таким образом готовили три параллельных ряда. Посевы инкубировали в течение 72 ч при температуре 37°C.

При исследовании действия лактоферрина на бифидобактерии стерильный раствор белка добавляли в пробирку с остывшей до 37°C питательной средой.

Исследование связывания лактоферрина человека с клетками бифидобактерий

Основываясь на том, что используемая нами среда Блаурокка не является дефицитной по железу и другим пищевым компонентам, которые могли бы повлиять на рост бифидобактерий в присутствии рчЛФ [10], было решено проверить, имеет ли место разная аффинность связывания исследуемого белка со штаммами *B. bifidum* и *B. infantis*. Для этого был использован биотинилированный рчЛФ, а в качестве контроля — биотинилированный бычий сывороточный альбумин (Bovine serum albumin, BSA; bBSA).

Использовали рчЛФ, биотинилированный в соответствии с инструкцией производителя набора для биотинилирования белков (Силекс, Россия). Для отмывки и концентрирования полученного раствора использовали концентраты для белков Microcon-50 (Millipore, США) и фосфатный буферный раствор в качестве промывочного раствора.

В реакции связывания использовали 1×10^7 КОЕ бифидобактерий и 1 мкг биотинилированного рчЛФ или BSA в качестве контроля. Компоненты предварительно растворяли в фосфатном буферном растворе с 0,05% твином 80 (PBS/твин 80), общий объем смеси составлял 2 мл. Смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч, далее клеточную культуру отмывали, используя четырехкратную процедуру центрифугирования-ресуспендирования в PBS/твин 80, добавляли авидин, меченный пероксидазой хрена (Имтек, Россия),

и инкубировали в течение 1 ч. Культуру бифидобактерий отмывали от несвязавшегося авидина, используя 4-кратную процедуру центрифугирования-ресуспендирования. После отмывки осадок бифидобактерий ресуспендировали в фосфатном буферном растворе, добавляли 3,3',5,5'-тетраметилбензидина гидрохлорида (НИОПИК, Россия) и перекись водорода (Лаверна, Россия), измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 450 нм для определения активности пероксидазы.

Для сравнения результатов экспериментов между двумя видами бифидобактерий значение средней оптической плотности, измеренное при инкубировании рчЛФ и *B. bifidum*, принимали за 100%, остальные значения пересчитывали относительно данного значения.

Эксперимент выполняли в трехкратной повторности.

Статистический анализ

Все эксперименты выполнялись в трехкратной повторности. Для сравнения результатов разных экспериментов за 100% принимали значение показателя в контрольном опыте, от которого рассчитывали остальные величины. На графиках указаны средние значения и стандартные отклонения. Для определения статистической значимости различий использовали *t*-критерий Стьюдента.

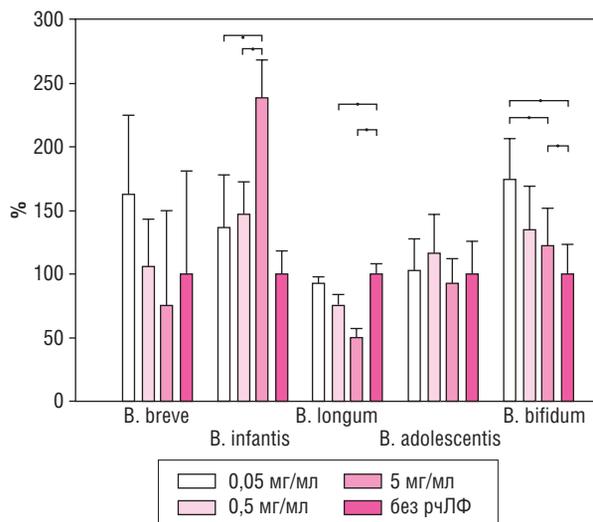
РЕЗУЛЬТАТЫ

Стимулирующее действие рчЛФ на различные виды бифидобактерий

Инкубирование колоний бифидобактерий в присутствии лактоферрина показало, что различные виды бифидобактерий по-разному реагируют на присутствие рчЛФ в среде (рис. 1). Так, для *B. longum* присутствие рчЛФ в среде оказывало дозозависимое ингибирующее действие; определяемый титр для *B. breve* и *B. adolescentis* не зависел от присутствия рчЛФ (см. рис. 1). Вместе с тем особенно интересными оказались результаты,

Рис. 1. Влияние различных концентраций рчЛФ (0,05–5 мг/мл) на рост бифидобактерий

Fig. 1. The effect of various concentrations of rhLF (0.05-5 mg/ml) on the growth of bifidobacteria

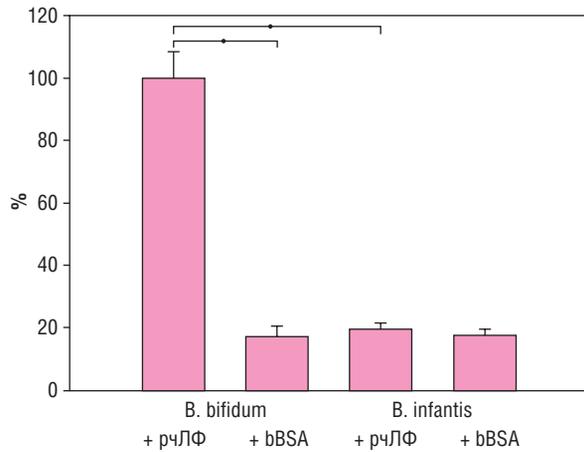


Примечание. На диаграмме представлено число КОЕ (72 ч) в предельном разведении исходного образца, выраженное в % от контроля (среда без лактоферрина). * — $p < 0,05$, опыт был проведен в трехкратной повторности.

Note. The diagram shows the number of CFU (72 h) at limiting dilution of the initial sample, expressed in % of the control (medium without lactoferrin). * — $p < 0,05$, the experiment was carried out in three stage.

Рис. 2. Связывание рчЛФ с клетками бифидобактерий *B. bifidum* и *B. infantis*

Fig. 2. Binding of rhLF to cells of *B. bifidum* and *B. infantis* bifidobacteria



Примечание. Исследование проводили параллельно в трех независимых экспериментах. Сигнал связывания с *B. bifidum* принимали за 100% и относительно данного значения рассчитывали остальные величины.

Note. The study was carried out in parallel in three independent experiments. The binding signal to *B. bifidum* was taken as 100% and the remaining values were calculated with respect to this value.

полученные с бифидобактериями *B. bifidum* и *B. infantis*. Титр, определяемый для данных видов бактерий, был разным в зависимости от концентрации рчЛФ в среде (см. рис. 1). Для *B. infantis* титр КОЕ увеличился при больших концентрациях рчЛФ. В случае *B. bifidum* определяемая зависимость имела обратный характер, и с увеличением концентрации рчЛФ титр КОЕ падал, тогда как малые концентрации рчЛФ в среде демонстрировали выраженную стимулирующую активность.

Связывание рчЛФ с клетками бифидобактерий

При изучении аффинности обнаружено, что связывание биотинилированного рчЛФ с клетками *B. bifidum* во много

раз превышает связывание с *B. infantis*, тогда как связывание рчЛФ с bBSA не отличалось между двумя видами бифидобактерий (рис. 2).

Кинетика роста бифидобактерий в присутствии различных концентраций рчЛФ

Для проверки предположения о влиянии связывания рчЛФ на рост бифидобактерий исследована кинетика роста *B. bifidum* и *B. infantis* в среде с рчЛФ по сравнению с контрольной средой, где этот белок отсутствовал (рис. 3). При изучении роста бактерии *B. infantis* лишь большие концентрации белка (3 мг/мл) позволяли добиться увеличения скорости роста. Для *B. bifidum* была характерна совершенно иная динамика: большие концентрации биотехнологического рчЛФ не оказывали стимулирующего эффекта (см. рис. 3А), тогда как при малых концентрациях оптическая плотность культуры превышала контрольное значение, достигая максимального показателя при концентрации биотехнологического рчЛФ 0,016 мг/мл.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

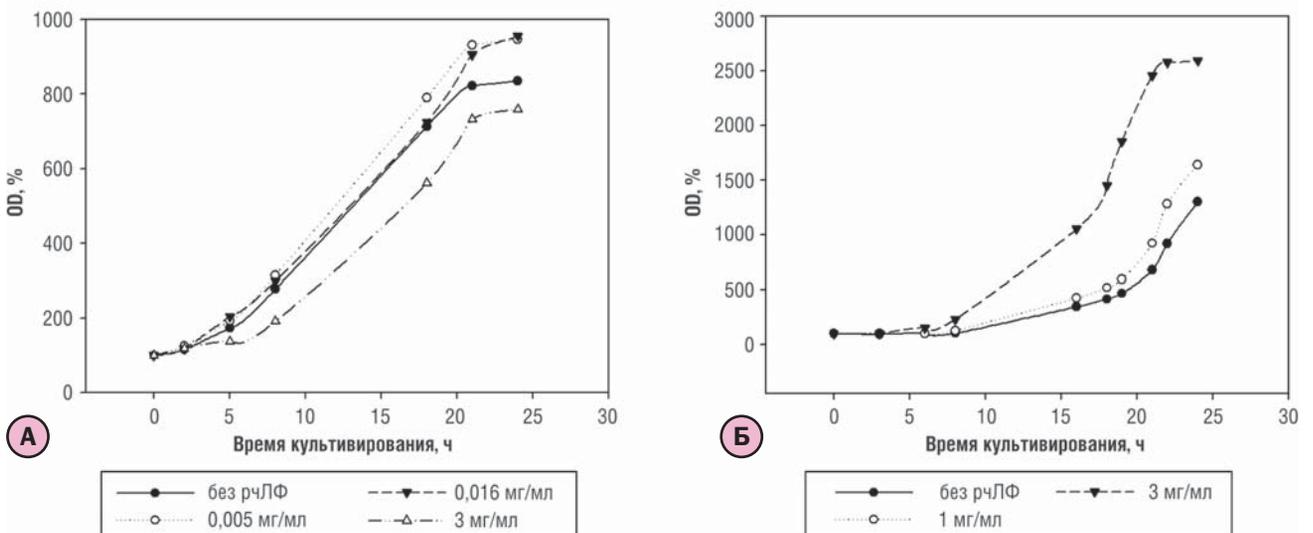
Показано, что различные концентрации (0,005–5 мг/мл) биотехнологического аналога лактоферрина человека могут оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее действие в отношении роста бифидобактерий, что обусловлено аффинностью связывания с ними лактоферрина.

Обсуждение основного результата исследования

Полученные данные свидетельствуют о том, что различные концентрации биотехнологического аналога лактоферрина человека могут оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее действие на рост бифидобактерий. Особенно чувствительными в концентрации лактоферрина в среде оказались *B. longum*, *B. infantis* и *B. bifidum*, для двух последних можно было определить оптимальную концентрацию лактоферри-

Рис. 3. Кинетика роста *B. bifidum* (А) и *B. infantis* (Б) в присутствии различных концентраций рчЛФ

Fig. 3. Growth kinetics of *B. bifidum* (A) and *B. infantis* (B) in the presence of various rhLF concentrations



Примечание. OD (%) — исходная оптическая плотность суспензии (OD), получаемая при внесении посевного материала, принималась за 100%, и от данной OD рассчитывались все показатели.

Note. OD (%) — the initial optical density of the suspension (OD) obtained with the seed stock introduction was taken as 100%, and all indices were calculated with respect to this OD.

на, а штаммы *B. adolescentis* и *B. breve* оказались мало-чувствительными к исследуемым концентрациям лактоферрина. Это подтверждает данные о пребиотических свойствах лактоферрина.

Биотехнологический аналог лактоферрина человека эффективно связывается с клеточной стенкой бифидобактерий *B. bifidum*, тогда как связывание с клетками *B. infantis* быстро достигает своего насыщения, что показывает видоспецифическое действие данного белка.

Большая аффинность связывания рЧЛФ с клетками *B. bifidum*, вероятно, объясняет тот факт, что лишь малые концентрации рЧЛФ оказывают стимулирующее действие, тогда как избыток белка может не оказывать стимулирующего эффекта на рост данного штамма бактерии. Падение концентрации лактоферрина наблюдалось при определении методом иммуноферментного анализа в присутствии бифидобактерий вида *B. breve*, где она снизилась примерно наполовину. Объяснение данного факта требует проведения дополнительных исследований, однако можно предположить, что тут имеет место неспецифическое связывание бифидобактерий данного вида с подложкой, что обуславливает большие фоновые значения.

Ограничения исследования

В данной работе все эксперименты были проведены *in vitro* на коллекции бифидобактерий. Для возможности оценки использования полученных результатов в практической педиатрии необходимо на следующем этапе клинических исследований получение физиологических данных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе показано, что биотехнологический аналог лактоферрина человека обладает прямым пребиотическим действием. В опытах с глубинным культивированием и методом предельных разведений в среде с добавлением данного белка конечный титр живых микроорганизмов оказался существенно выше при культивировании таких видов бифидобактерий, как *B. infantis*, *B. breve*, *B. bifidum* и *B. longum*. Эти виды микроорганизмов характерны для детей, находящихся на грудном вскармливании. Возможность использования лактоферрина, обладающего бифидогенными

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Global strategy for infant and young child feeding: the optimal duration of exclusive breastfeeding [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2001 [cited 2017 May 12]. Available from: http://apps.who.int/gb/archive/pdf_files/WHA54/ea54id4.pdf.
2. Effect of breastfeeding on infant and child mortality due to infectious diseases in less developed countries: a pooled analysis. WHO Collaborative Study Team on the Role of Breastfeeding on the Prevention of Infant Mortality. *Lancet*. 2000;355(9202):451–455. doi: 10.1016/S0140-6736(99)06260-1.
3. Ochoa TJ, Zegarra J, Cam L, et al. Randomized controlled trial of lactoferrin for prevention of sepsis in peruvian neonates less than 2500 g. *Pediatr Infect Dis J*. 2015;34(6):571–576. doi: 10.1097/INF.0000000000000593.
4. Magnuson JS, Henry JF, Yip TT, Hutchens TW. Structural homology of human, bovine, and porcine milk lactoferrins: evidence for shared antigenic determinants. *Pediatr Res*. 1990;28(2):176–181. doi: 10.1203/00006450-199028020-00019.
5. Ward PP, Piddington CS, Cunningham GA, et al. A system for production of commercial quantities of human lactoferrin: a broad spectrum natural antibiotic. *Biotechnology (N Y)*. 1995;13(5):498–503. doi: 10.1038/nbt0595-498.

и выраженными бактерицидными свойствами, для профилактики и лечения инфекционной патологии желудочно-кишечного тракта в педиатрии подтверждена многочисленными мировыми данными.

Известна определенная связь между концентрацией лактоферрина в женском молоке и заболеваемостью грудных детей.

Представляются практически важными определение концентрации различных штаммов бифидобактерий и лактобацилл в фекалиях детей, находящихся на грудном и искусственном вскармливании, а также изучение механизма избирательного действия лактоферрина на различные микроорганизмы.

Использованные в данной работе микробиологические методики могут быть применены для решения задач по разработке новых продуктов питания грудных детей.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнялась при финансовой поддержке биотехнологического центра «Российская коллекция генетического материала» (Трансгенбанк, Россия)

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕССОВ

Л.С. Намазова-Баранова — получение исследовательских грантов от фармацевтических компаний Пьер Фабр, Genzyme Europe B. V., ООО «Астразенека Фармасьютикалз», Gilead / PRA «Фармасьютикал РисерчАссошиэйтс СиАйЭс», Teva Branded Pharmaceutical products R&D, Inc / ООО «ППД Девелопмент (Смоленск)», Сталлержен С. А. / Квинтайлс ГезмБХ (Австрия).

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

ORCID

Л.С. Намазова-Баранова

<http://orcid.org/0000-00022209-7531>

Т.Э. Боровик

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

О.Л. Лукоянова

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

И.Л. Гольдман

<http://orcid.org/0000-0003-1534-3367>

Е.Р. Садчикова

<http://orcid.org/0000-0003-2039-7108>

6. 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.
7. 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. Recent advances in clinical medicine. Proceedings of the International Conference on Medical Pharmacology (PHARMACOLOGY '10). Proceedings of the International Conference on Medical Histology and Embryology (HISTEM '10). Proceedings of the International Conference on Oncology (ONCOLOGY '10). Proceedings of the International Conference on Psychiatry and Psychotherapy (PSYCHO '10); 2010 Feb 23–25; University of Cambridge, UK. Cambridge: WSEAS Press; 2010. p. 315–321.
8. 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. 78–84. [Chernousov AD, Nikonova MF, Sharova NI, et al. Neolactoferrin as a stimulator of innate and adaptive immunity. *Acta Naturae*. 2013;5(4):67–71. (English language version)]
9. Боровик Т.Э., Яцык Г.В., Намазова-Баранова Л.С., и др. Возможности использования лактоферрина человека в

педиатрической практике // Вопросы современной педиатрии. — 2014. — Т.13. — №4 — С. 12–19. [Borovik TE, Yatsyk GV, Namazova-Baranova LS, et al. Applicability of a human lactoferrin in pediatric practice. *Current pediatrics*. 2014;13(4):12–19. (In Russ).] doi: 10.15690/vsp.v13i4.1079.

10. Oda H, Wakabayashi H, Yamauchi K, Abe F. Lactoferrin and bifidobacteria. *Biomaterials*. 2014;27(5):915–922. doi: 10.1007/s10534-014-9741-8.

11. Бродский И. Б., Бондаренко В. М., Томашевская Н. Н., и др. Антимикробные, иммуномодулирующие и пребиотические свойства лактоферрина // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. — 2013. — №4 — С. 3. [Brodsky IB, Bondarenko VM, Tomashevskaya NN, et al. Antimicrobial, immunomodulatory and prebiotic properties of lactoferrin. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN*. 2013;(4):3. (In Russ).]

12. Kim WS, Rahman M, Kumura H, Shimazaki K. Comparison of growth promoting effects on *Bifidobacterium* spp. by bovine lactoferrin hydrolysates. *Biosci Microflora*. 2005;24(4):119–123. doi: 10.12938/bifidus.24.119.

13. Otsuki K, Tokunaka M, Oba T, et al. Administration of oral and vaginal prebiotic lactoferrin for a woman with a refractory vaginitis recurring preterm delivery: appearance of *Lactobacillus* in vaginal flora followed

by term delivery. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014;40(2):583–585. doi: 10.1111/jog.12171.

14. Shimazaki K, Kawaguchi A, Sato T, et al. Analysis of human and bovine milk lactoferrins by Rotofor and chromatofocusing. *Int J Biochem*. 1993;25(11):1653–1658. doi: 10.1016/0020-711x(93)90524-i.

15. Garcia-Montoya IA, Cendon TS, Arevalo-Gallegos S, Rascon-Cruz Q. Lactoferrin a multiple bioactive protein: an overview. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1820(3):226–236. doi: 10.1016/j.bbagen.2011.06.018.

16. 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.

17. Jiang R, Du X, Lönnnerdal B. Comparison of bioactivities of talactoferrin and lactoferrins from human and bovine milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;59(5):642–652. doi: 10.1097/MPG.0000000000000481.

18. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. — М.: Медицина; 1982. 78 с. [Spravochnik po mikrobiologicheskim i virusologicheskim metodam issledovaniya. Moscow: Meditsina; 1982. 78 p. (In Russ).]



Симуляционно-тренинговый центр Национального научно-практического центра здоровья детей

Национальный научно-практический центр здоровья детей — уникальный педиатрический центр с инновационной технологической и научной инфраструктурой, являющийся крупнейшим образовательным центром послевузовского профессионального образования детских врачей (педиатров и детских хирургов) России и стран СНГ.

В 2013 г. на базе Центра открыт современный высокоспециализированный компьютеризированный симуляционно-тренинговый центр. Центр оснащен современным оборудованием: роботы-симуляторы (PediaSIM, BabySIM), виртуальные симуляторы (ЛапСим, ВиртуОрт), педиатрические манекены (НьюБОРН, ВиртуБэби, ТравмаКинд

и др.), респираторный тренажер (ТестЧест), медицинские видеотренажеры для лапароскопии, муляжи и фантомы для отработки практических навыков различной сложности. Пять учебных классов снабжены видеокамерами и объединены в сеть, изображение из них транслируется в зал дебрифинга. В ходе тренингов манекены-имитаторы высочайшего уровня позволяют создать множество приближенных к реальности клинических ситуаций, овладеть мануальными навыками оказания базовой и экстренной медицинской помощи детям в возрасте до 5 лет, смоделировать принципы оказания экстренной посиндромной терапии.

Более подробная информация по адресу:
simcenter@nczd.ru