

RUOLO DELLA LISINA E DELLA LATTOFERRINA NEL TRATTAMENTO DELLE INFEZIONI DA FELINE HERPESVIRUS tipo 1

*Matteo Cerquetella, Vittorina Colombatti, Fulvio Laus, Silvia Prezioso,
Vincenzo Cuteri, Ilenia Copponi, Andrea Spaterna*



UNIVERSITÀ
DI CAMERINO



Teknofarma
torino

MALATTIE INFETTIVE

Ruolo della lisina e della lattoferrina nel trattamento delle infezioni da *Feline Herpesvirus* tipo 1

Matteo Cerquetella, Vittorina Colombatti*, Fulvio Laus, Silvia Prezioso, Vincenzo Cuteri, Ilenia Copponi
Andrea Spaterna

Scuola di Scienze Mediche Veterinarie, Università degli Studi di Camerino

*Teknofarma S.p.A.

RIASSUNTO

Feline Herpesvirus tipo 1 (FHV-1) è altamente diffuso nella popolazione felina così come altrettanto elevata è la percentuale dei soggetti portatori. La sintomatologia correlata all'infezione può essere aspecifica anche se spesso è caratterizzata da interessamento oculare e/o delle vie aeree superiori. L'assenza di una terapia specifica nei confronti di tale malattia pone l'interesse su soluzioni aggiuntive ed è in questo contesto che potrebbero giocare un ruolo importante due molecole quali la lisina e la lattoferrina. Nel presente lavoro vengono descritte dettagliatamente le attività antivirali di queste due molecole ipotizzando peraltro un razionale per il loro utilizzo combinato in corso di infezione da FHV-1.

Parole chiave: gatto, *Feline Herpesvirus* tipo 1, lisina, lattoferrina.

SUMMARY**Role of lysine and lactoferrin in treating infections by *Feline Herpesvirus* type 1**

Feline Herpesvirus type 1 (FHV-1) is widespread within the feline population as well as high is the percentage of carrier. Clinical sign is nonspecific even if frequently the virus is cause of acute upper respiratory tract and ocular disease. The absence of a specific therapy against the disease stimulates the research toward the individuation of adjunctive solutions; in this context lysine and lactoferrin could play an interesting role. In the present paper the antiviral activity of the two molecules is described in detail, assuming moreover a rationale for their combined use during FHV-1 infections.

Keywords: cat, *Feline Herpesvirus* type 1, lysine, lactoferrin.

F*eline herpesvirus* tipo 1 (FHV-1) è l'agente eziologico della rinotracheite infettiva felina. L'infezione è altamente diffusa: è stato dimostrato che il 97% dei gatti presenta anticorpi nei confronti di questo virus (Maggs *et al.*, 1999; Maggs *et al.*, 2000). Tale elevata diffusione trova giustificazione nel fatto che circa l'80% dei gatti infettati, a prescindere dalla comparsa di una sintomatologia clinica più o meno grave, rimane portatore del virus e che nel 45% circa dei casi si può avere, a seguito di stress o della somministrazione di corticosteroidi (Gaskell & Povey, 1977), una riattivazione con successiva eliminazione del virus (Maggs, 2005), in associazione o meno a manifestazioni cliniche (Maggs, 2007). Un'altra causa che favorisce la diffusione dell'infezione è il fatto che l'immunità materna, che dura nel cucciolo da due a dieci settimane a seconda della quantità di anticorpi assunti con il colostro, non è sempre in grado, specie nel caso di titoli bassi, di proteggere il cucciolo dalle infezioni subcliniche che perdureranno poi per tutta la vita.

Il virus mostra uno spiccato tropismo per l'epitelio delle alte vie respiratorie, in particolare per l'epitelio nasale, ma anche per la congiuntiva, dove risulta essere in grado di indurre fenomeni necrotici.

Il quadro sintomatologico della rinotracheite infettiva è alquanto polimorfo, potendo manifestarsi con sintomi generali (anoressia, depressione del sensorio), quale espressione di un grave interessamento sistemico, nonché con segni più specifici riconducibili all'interessamento dell'apparato respiratorio (rinite, laringite,

tracheite), al coinvolgimento dell'occhio che può determinare congiuntivite, cheratite e ulcere corneali (Bouhanna, 2004), mentre più rare risultano le lesioni a carattere ulcerativo a carico della cute, in particolare della testa e del tronco, e della mucosa orale (Gaskell, 2005). L'infezione durante la gravidanza può determinare aborto o una grave infezione generalizzata nei neonati con encefalite ed epatite necrotizzante.

L'approccio terapeutico a questa malattia è limitato in genere alla sola gestione delle complicanze batteriche, non esistendo, a tutt'oggi, alcuna terapia specifica. Tutt'al più vengono utilizzati, senza il supporto di studi appropriati che lo giustificano, farmaci antivirali mutuati dalla medicina umana. Il costo di questi antivirali è piuttosto elevato, mentre la tossicità e le azioni secondarie sono tutt'altro che indifferenti nel gatto.

La profilassi si basa sull'uso di vaccini, che, pur non in grado di evitare l'infezione, riescono a ridurre l'entità della sintomatologia (Maggs, 2007).

Scopo del presente lavoro è quello di fare il punto sull'efficacia antivirale e la sicurezza di impiego di due molecole, la lisina e la lattoferrina, con la finalità di proporre una loro associazione per rendere, se possibile, più mirata la gestione terapeutica di questa malattia.

Lisina

La lisina (Lis) è un aminoacido (aa) essenziale, basico, altamente idrosolubile, con peso molecolare 146.19. ▶▶

Dopo assorbimento a livello intestinale la Lis può essere metabolizzata nel fegato o essere trasportata al tessuto muscolare, dove raggiunge elevate concentrazioni, lasciando ipotizzare anche un suo ruolo di riserva (Anon, 2007).

Tra i processi biologici in cui è implicata la Lis, si ricorda il suo coinvolgimento nella sintesi di numerosi tessuti, connettivo in particolare, l'essere un precursore della carnitina e l'essere coinvolta nella produzione di energia (Anon, 2007).

La Lis è stata inizialmente somministrata al gatto sulla base dei buoni risultati ottenuti in medicina umana nel trattamento dell'*Herpes simplex virus* tipo 1 (HSV-1) (Milman *et al.*, 1979; Kagan 1974).

In questi ultimi anni numerosi studi hanno verificato nell'uomo l'efficacia della Lis nella gestione terapeutica delle infezioni virali da *Herpes simplex* (Kagan, 1974; Milman *et al.*, 1979; Anon, 2007; Settini, 2007). Anche negli animali, compreso il gatto (Maggs, 2007), è stato studiato l'effetto antivirale svolto dalla Lis, che si estrinseca non tanto per un'azione diretta nei confronti del virus FHV-1, quanto piuttosto per l'azione inibitoria competitiva nei confronti dell'arginina (Arg) (Griffith *et al.*, 1981; Bouhanna, 2004), aminoacido fondamentale per la replicazione del virus erpetico (Anon, 2007; Hawkins, 2007). Infatti, in assenza di Arg i virus erpetici non replicano e non sopravvivono in colture cellulari.

La Lis può sostituire l'Arg nella sintesi delle proteine virali dando origine a peptidi anomali (antimetaboliti), inutilizzabili nella sintesi delle particelle virali.

L'accumulo a livello citoplasmatico di questi peptidi contribuisce a un'ulteriore down modulazione della sintesi delle proteine virali.

La Lis inoltre stimola l'azione dell'arginasi, ovvero del principale enzima responsabile della degradazione catabolica dell'Arg, contribuendo a limitare la disponibilità di questo aminoacido indispensabile per il virus erpetico.

A una minore replicazione del virus corrisponde una minore dispersione ambientale di particelle virali.

L'efficacia della Lis è stata determinata sia *in vitro* che *in vivo*; nel primo caso Maggs *et al.* (2000) hanno dimostrato che la replicazione di FHV-1 può essere ridotta fino al 50% quando al terreno di coltura del virus viene aggiunta della Lis, a condizione però che nello stesso terreno sia presente una concentrazione adeguata ma non eccessivamente elevata di Arg, in quan-

to tale situazione sarebbe in grado di far venire meno l'azione inibitoria della Lis. La Lis si trova in buone concentrazioni in tutte le carni di animali ruminanti, nel maiale e nel pesce, con un rapporto Lis/Arg spostato a favore della Lis. Tale rapporto è invece a favore dell'arginina nelle carni di cavallo, in tutti i cereali e nella soia ed è praticamente pari nelle verdure.

In vivo il rapporto Lis/Arg è determinante per modulare la replicazione del virus, tenuto però presente che la quantità di Arg nella dieta del gatto, in quanto aminoacido essenziale, non può scendere al di sotto del fabbisogno (Maggs *et al.*, 2000).

Anche gli studi effettuati *in vivo* confermano l'efficacia della Lis nella gestione terapeutica di gatti affetti da FHV-1.

Su 14 gatti infettati sperimentalmente con FHV-1 è stata valutata la gravità della sintomatologia e l'entità dell'eliminazione virale, con e senza supplementazione di Lis: nei soggetti in cui è stata effettuata la somministrazione di Lis, alla dose di 400 mg per OS SID, è stata registrata, rispetto al gruppo controllo, una più tardiva insorgenza dei sintomi, nonché un'eliminazione virale quantitativamente inferiore (Maggs 2003b).

Un altro studio effettuato recentemente su gatti portatori asintomatici di FHV-1 ha evidenziato che i soggetti trattati con Lis (400 mg OS SID) presentavano una riduzione, statisticamente significativa, nella eliminazione del virus rispetto ai controlli non trattati (Maggs, 2008).

In un altro studio, la somministrazione di Lis (500 mg OS BID) in soggetti infettati sperimentalmente per instillazione congiuntivale con il virus erpetico ha determinato la comparsa di una sintomatologia più tardiva e più lieve rispetto ai soggetti controllo che avevano ricevuto un placebo (Stiles *et al.*, 2002).

L'azione competitiva della Lis verso l'Arg pone tuttavia una limitazione quantitativa all'utilizzo della Lis; infatti, un'eccessiva inibizione dell'Arg può determinare la comparsa di problematiche relative alla carenza di tale aa, indispensabile per la trasformazione dell'ammoniaca in urea, e per evitare un accumulo di scorie azotate (Hand *et al.*, 2000).

A tal proposito sono stati effettuati degli studi mirati a determinare fino a che punto ci si possa spingere con l'integrazione di Lis senza incorrere in una carenza secondaria di Arg.

Considerando che in una normale dieta per gatti del commercio l'apporto corretto di Arg si aggira intorno a 13 g di aa/kg

di mangime secco, mentre quello di Lis intorno a 11 g/kg (Fascetti *et al.*, 2004), Maggs *et al.* (2003a) hanno evidenziato che, somministrando due diete, una contenente appunto 11 g/kg e l'altra 51 g/Kg di Lis, i gatti che ricevevano il dosaggio più elevato presentavano inappetenza e dimagrimento, a fronte di una notevole alterazione del rapporto Lis/Arg, rendendo quindi sconsigliabile un'integrazione così elevata.

In un altro studio sono state effettuate nel mangime, contenente apporti normali di Lis e Arg, cinque differenti integrazioni crescenti di Lis in modo da portarne il contenuto totale a 36 g/kg, 61 g/kg, 86 g/kg, 111 g/kg e 131 g/kg e il trattamento è stato protratto per 15 giorni. I gatti trattati con concentrazioni di Lis nella dieta superiori a 36 g/kg di mangime manifestavano saltuaria diminuzione dell'appetito e dell'assunzione di cibo, pur non mostrando, anche per le integrazioni di Lis più elevate, né diminuzione dei livelli ematici di Arg né, conseguentemente, segni clinici della sua carenza (Fascetti *et al.*, 2004).

I dosaggi di Lis attualmente utilizzati come integrazione nel trattamento della sintomatologia da FHV-1 sono pari a 100 mg Lis/kg di peso corporeo (p.c.) 1-2 volte al giorno sino a scomparsa della sintomatologia (Luigi Settini, 2007). Alla luce di quanto sopra esposto è opportuno verificare se tale dosaggio corrisponde a un apporto di Lis inferiore alla quantità di Lis dimostratasi sicura (36 g/kg di mangime) e quindi tale da non determinare effetti secondari nel gatto.

Eseguiamo come esempio il calcolo per un gatto adulto di 4 kg che consuma mediamente una quantità di mangime pari a 70 g di sostanza secca al giorno, che contiene di base:

- 13 g di Arg per 1000 g di mangime secco, cioè 13 mg di Arg/g pari a una assunzione giornaliera di 910 mg di Arg.
- 11 g di Lis per 1000 g di mangime secco, cioè 11 mg di Lis/g pari a una assunzione giornaliera di 770 mg di Lis.

Dal calcolo sopra esposto si deduce che:

| |
|---|
| Apporto in Lis di 70 g di mangime normalmente consumato in un giorno |
| 11 mg x 70 g = 770 mg |
| Apporto in Lis di 70 g di mangime integrato con la dose massima di Lis ben tollerata |
| 36 mg/g x 70 g = 2520 mg |

Utilizzando la supplementazione di Lis alle dosi attualmente in uso (100 mg/Kg 1 – 2 volte al giorno, pari a 400 – 800 mg/die per un gatto di 4 kg) si otterrà:

| | | | |
|---|---|---|---------------------------|
| Apporto in Lis di 70 g di mangime (11 mg x 70 = 770 mg) | Apporto + dell'integrazione (400 mg / 800 mg) | = | 770 mg + 400 mg = 1170 mg |
| | | | 770 mg + 800 mg = 1570 mg |

L'apporto totale di Lis (1170 mg o 1570 mg/die) è molto al di sotto dei 2520 mg considerati ancora del tutto sicuri.

Oltre alla quantità complessiva di Lis nella dieta, è stata indagata anche la possibilità di suddividere tale integrazione in due somministrazioni giornaliere. A tal proposito di estremo interesse risulta il lavoro di Maggs *et al.* (2003b), nel quale viene rilevato un rapido aumento nella concentrazione plasmatica di Lis post-somministrazione seguita da un'altrettanto rapida decrescita, il che suggerisce l'opportunità di suddividere la dose giornaliera di Lis in due somministrazioni nelle 24 ore.

La somministrazione della Lis deve avvenire in bolo e non attraverso un mangime integrato, in quanto i gatti, nel periodo di recrudescenza della patologia, si alimentano in modo altalenante e di conseguenza l'assunzione della supplementazione di Lis diventa aleatoria.

Niente vieta però che il supplemento di Lis venga somministrato, in poco cibo gradito, purché questo venga totalmente consumato.

Lattoferrina

La lattoferrina (LF) è una glicoproteina della famiglia delle transferrine, del peso di circa 80 KDa, scoperta nel 1939 ma isolata per la prima volta dal latte umano e bovino nel 1960 (Sorensen & Sorensen, 1939; Johansson, 1960).

La sua catena proteica risulta costituita da 703 aminoacidi mentre quella glucidica è composta da galattosio, mannosio, fucosio, N-acetilglucosamina e acido N-acetilneuramico.

La LF deve il suo nome al fatto di essere presente nel latte a una concentrazione inferiore solo alla caseina e di rappresentare la più importante proteina legante il ferro (González-Chávez *et al.*, 2009). La LF è riscontrabile nel latte di quasi tutti i mammiferi (tabella 1) a una concentrazione decrescente col progredire della lattazione; il colostro risulta pertanto contenerne la massima quantità.

TABELLA 1. Contenuto di lattoferrina nel latte dei vari mammiferi

| > 2000 γ /ml | 200-2000 γ /ml | 20-200 γ /ml | < 50 γ /ml |
|---------------------|-----------------------|---------------------|-------------------|
| donna | cavia | bovina | ratto |
| | topo | capra | coniglio |
| | asina | scrofa | cagna |

Tale proteina non è prerogativa esclusiva del latte, essendo dosabile anche in altri numerosi fluidi organici nonché nei granulociti neutrofili (tabella 2) (Levy & Viljoen 1995).

Come si evince dalla tabella 2, le concentrazioni plasmatiche della LF sono più basse rispetto a quelle degli altri fluidi organici e verosimilmente derivano dai granulociti neutrofili (Iyer & Lønnerdal, 1993), all'interno dei quali la LF è contenuta in specifici granuli (Saito *et al.*, 1993); gli stimoli che ne determinano il rilascio nel plasma sono probabilmente di tipo multifattoriale, considerando che incrementi della lattoferrinemia si riscontrano in corso di processi infiammatori aspecifici, di malattie infettive e di patologie neoplastiche (Hirai *et al.*, 1993).

I meccanismi di clearance sembrano invece essere prevalentemente legati alla fagocitosi delle cellule del sistema reticolo-endocitosi e, in misura minore, all'azione di endocitosi degli epatociti. Esiste comunque una correlazione fra la concentrazione di LF e il numero di neutrofili in circolo.

La LF è un importante componente del sistema di difesa antinfettivo aspecifico verso gli agenti esterni a livello delle superfici mucosali nonché a livello gastroenterico mediante il colostro ed il latte.

Al di là delle sue ormai comprovate proprietà antimicrobiche, la LF è dotata di effetti, immunomodulatori, antinfiammatori e antiossidanti; nei neonati inoltre stimola lo sviluppo e la proliferazione dei bifido batteri e interviene nell'assorbimento intestinale del ferro (Rahman *et al.*, 2008).

Diversi studi hanno dimostrato la presenza di recettori per la LF sulla superficie di diverse cellule, quali gli enterociti, gli epatociti, le cellule della barriera ematoencefalica, molte cellule immunitarie, le piastrine ed alcuni batteri (Levy & Viljoen, 1995).

Una volta rilasciata dai neutrofili nel sito dell'infiammazione, come conseguenza della loro degranulazione, la LF è in grado di attivare le cellule *natural killer* (NK), di modulare la differenziazione e l'attività linfocitaria, di modulare la produzione citochinica macrofagica, di indurre la fagocitosi macrofagica e neutrofila (Lash *et al.*, 1983) e, grazie alla sua attività chelante il ferro, di prevenire il danno ossidativo sui tessuti inibendo la formazione di molecole reattive ossigeno-derivate (Cohen *et al.*, 1992).

Essa è inoltre in grado di modulare alcune citochine proinfiammatorie (interferone, *tumor necrosis factor*) e diverse interleuchine (IL-1, IL-2 e IL-6) (González-Chávez *et al.*, 2009), nonché di modulare gli eccessi da lipopolisaccaride (LPS), molecola cardine della stimolazione immunitaria, ma anche dei fenomeni infiammatori, compreso lo shock settico. (Appelmelk *et al.*, Britigan *et al.*, 1994; Wang *et al.*, 1995). La LF può quindi a tutti gli effetti essere considerata un regolatore dell'immunità sia innata che acquisita (González-Chávez *et al.*, 2009), sia per mezzo della sua interazione con recettori presenti sulle membrane cellulari, sia attraverso l'attivazione genica una volta penetrata nel nucleo (Crouch *et al.*, 1992).

La LF è entrata da poco nel bagaglio terapeutico veterinario, per cui uno sguardo critico sulla sua tossicità, tollerabilità e mutagenesi è quanto mai opportuno. Studi condotti nel ratto hanno portato a concludere che effetti secondari possono comparire solamente per posologie superiori a 2000 mg/kg p. c. (Appel *et al.*, 2006).

D'altra parte, vista la quantità di LF contenuta nel latte di donna (2 mg/Kg nel primo periodo di lattazione, quando un neo-

TABELLA 2. Livelli di lattoferrina in alcuni fluidi organici e tessuti umani

| | | | |
|--------------------|------------------------|--------------------------|--|
| Lacrime | 1500-2200 γ /ml | Urina | 0,01-0,03 γ /ml |
| Liquido seminale | 500-1000 γ /ml | Sangue (soggetto sano) | 0,02-1 γ /ml |
| Muco cervicale | 500-1000 γ /ml | Sangue (soggetto malato) | 1-200 γ /ml |
| Secreto nasale | 100 γ /ml | Liquido amniotico | 2-32 γ /ml |
| Secreto bronchiale | 35 γ /ml | Cordone ombelicale | < 1 γ /ml |
| Saliva | 5-10 γ /ml | Liquido sinoviale | 46 γ /ml |
| Bile | 10-40 γ /ml | Neutrofili | 2-15 γ /10 ⁶ cellule |

nato di 4 kg assume 400 ml di latte al giorno. Pari a 800 mg di lattoferrina (200 mg/kg), è ovvio che non si possano prospettare problemi di tossicità.

L'attività mutagena di tale molecola è stata studiata con il test di Ames, il che ha permesso di classificarla come non mutagena. (Yamauchi *et al.*, 2000a)

La LF viene assunta per via orale; è quindi determinante che la sua attività non venga compromessa dall'azione del pH e dagli enzimi con i quali entra in contatto nel tratto gastroenterico.

La resistenza, praticamente *in toto*, alla digestione, sia della LF che della apolattoferrina, è stata comprovata sperimentalmente nell'uomo, nel topo e nel ratto. In laboratorio è stata verificata la sua resistenza sia al calore che ai pH acidi. È stato inoltre dimostrato che gli eventuali peptidi prodotti dalla sua digestione sono in molti casi più attivi della LF stessa (Xu *et al.*, 2010). Una dimostrazione indiretta dell'attività della LF somministrata per OS viene anche dai numerosi lavori sul suo utilizzo pratico come antibatterico, antimicotico e antiparassitario (Yamauchi *et al.*, 2000; Teraguchi *et al.* 2004; Togawa *et al.* 2002).

Per molto tempo si è ritenuto che la LF dovesse la sua azione antibatterica esclusivamente alla capacità di legare il ferro, creando cioè in sito un ambiente povero di questo elemento e quindi non idoneo alla crescita batterica, essendo il ferro un oligoelemento indispensabile per la replicazione dei batteri (Arnold *et al.*, 1980; Ogata *et al.*, 1998). In realtà questo meccanismo rappresenta solo una parte dell'azione della LF nei confronti dei microrganismi e cioè quella batteriostatica. È stata ora dimostrata un'interazione diretta della LF con diversi germi patogeni (azione battericida). La LF è in grado di legarsi ad alcune molecole di membrana dei batteri (porine, fattori di colonizzazione, lipopolisaccaridi, recettori per l'emoglobina) determinandone il danneggiamento irreversibile; alcuni batteri, inoltre, messi a contatto con la LF perdono la loro capacità di legarsi alla cellula ospite (Arnold *et al.*, 1980; Ellison *et al.*, 1988; Shin *et al.*, 1998);

Essendo presente, come precedentemente accennato, in diversi fluidi organici oltre che nel sangue, la LF sinergizza con altri meccanismi di difesa aspecifici presenti nelle varie secrezioni esocrine, sulle superfici mucosali e nelle cellule infiammatorie. Tale cooperazione si esplica ad esempio in associazione al lisozima, ad alcune

immunoglobuline, nonché ai peptidi antimicrobici e agli inibitori delle proteasi secreti dai leucociti (Spik *et al.*, 1978; Ellison *et al.*, 1988).

La LF possiede attività antivirale nei confronti di un ampio *range* di virus a DNA e a RNA, sia dell'uomo che degli animali.

Il virus respiratorio sinciziale dell'uomo è inibito, *in vitro*, da una concentrazione di LF fino a dieci volte inferiore a quella riscontrabile nel latte umano (González-Chávez *et al.*, 2009). Adenovirus ed Enterovirus, virus privi di envelope, risultano anch'essi sensibili all'azione della LF (Seganti *et al.*, 2004). Ancora la LF è in grado di impedire *in vitro* l'infezione cellulare da parte di Human Immunodeficiency Virus (HIV) e la sua replicazione all'interno della cellula ospite (Viani *et al.*, 1999).

Il meccanismo d'azione della LF nei confronti di questi agenti patogeni non è ancora stato chiarito, ma si presume possa essere diverso a seconda del tipo di virus, ad esempio potrebbe impedire il processo di internalizzazione del virus della poliomielite dell'uomo (Marchetti *et al.*, 1999), dell'Herpes simplex virus tipo I e II (Hasegawa *et al.*, 1994), del Citomegalovirus (Beljaars *et al.*, 2004) e dei virus dell'epatite B e C dell'uomo (HBV e HCV) (Hara *et al.*, 2002; Nozaki *et al.*, 2003). Alla base di questo meccanismo sembra esserci il legame della LF con i recettori virali e il loro conseguente blocco, venendo pertanto impedito il contatto virus-cellula e quindi l'infezione. Per altri virus, come i Rotavirus, sembrerebbe piuttosto in causa un'inibizione della replicazione all'interno della cellula ospite (Superti *et al.*, 1997). Come già accennato, i virus erpetici umani, e in particolare Herpes simplex virus tipo I e II (HSV-I e HSV-II) sono particolarmente sensibili *in vitro* all'azione della LF. In particolare ne viene inibita la replicazione e la loro diffusione da cellula a cellula (Marchetti *et al.*, 1998; Marchetti *et al.*, 1996; Beljaars *et al.*, 2004; Ammendolia *et al.*, 2007; Jenssen *et al.*, 2008; Välimaa *et al.*, 2009; Marley *et al.*, 2009; Marr *et al.*, 2009; Marchetti *et al.*, 2009). Analoghi risultati sono stati ottenuti *in vitro* con l'Herpesvirus canino su cellule renali di cane (Tanaka *et al.*, 2003).

Studi *in vivo* hanno inoltre dimostrato che la somministrazione di LF per via orale nel topo diminuisce i sintomi cutanei dell'infezione sperimentale da HSV-I, attenua la sintomatologia sistemica (perdita di peso) e riduce il numero di splenociti infettati dal virus (Wakabayashi *et al.*, 2004). Si verifica inoltre un concomitan-



te incremento del livello serico di alcune interleuchine che partecipano a quello che risulta essere un efficace effetto generale di difesa contro il virus, anche se non sufficiente a determinare la completa eliminazione dello stesso (Wakabayashi *et al.*, 2004).

Per quello che riguarda il potenziale utilizzo terapeutico della LF in patologia felina esistono indicazioni più che incoraggianti.

La LF è risultata anche attiva *in vitro* nell'inibire l'infezione cellulare da parte del *Calicivirus* felino (McCann *et al.*, 2003). Risultati positivi sono stati ottenuti, nel trattamento della stomatite causata dallo stesso agente patogeno quando testata *in vivo*, come polvere topica (Addie *et al.*, 2003).

Sato *et al.* (1996) utilizzando localmente la LF (cospargendo cioè l'interno del cavo orale) in gatti affetti da grave stomatite, sia positivi che negativi al virus dell'immunodeficienza felina (FIV), hanno riscontrato in tutti un notevole miglioramento clinico associato a un incremento dell'attività fagocitaria neutrofila. Studi successivi (Kobayashi *et al.*, 2005 e 2008) hanno evidenziato come la LF di origine bovina sia in grado di neutralizzare gli effetti pro-infiammatori (proliferazione cellulare, espressione di citochine, produzione di interferone nelle cellule mononucleate del sangue di gatti FIV positivi, prospettandone la possibilità concreta di un utilizzo pratico nel trattamento di questa grave patologia.

Per quello che riguarda l'*Herpes virus felino* (FHV-1), un interessante lavoro (Beaumont *et al.*, 2003) ha dimostrato che l'aggiunta di LF a colture cellulari di rene di gatto infettate con FHV-1 è in grado di impedire la replicazione *in vitro* del virus, ma solo se tale aggiunta viene effettuata prima e durante, non dopo, l'adsorbimento del virus a livello delle cellule. Questo indica chiaramente come la LF sia in grado di impedire l'adsorbimento del virus sulla superficie cellulare e/o la sua penetrazione all'interno della cellula. Il dato più interessante è che la replicazione virale viene inibita fino al 96% e in modo indipendente dalla concentrazione della LF utilizzata.

Da quanto esposto si deduce come la LF, oltre alla sua dimostrata attività quando utilizzata per via topica (che nel caso dell'utilizzo per distribuzione nel cavo orale si prospetta in pratica come un uso orale), risulta efficace anche quando somministrata semplicemente per via orale. Que-

sta molecola, come prima accennato, è molto resistente, oltre che al pH acido e al calore (Abe *et al.*, 1991), anche al processo digestivo gastrico (Iyer *et al.*, 1993); nell'uomo è stato dimostrato che fino al 79% di LF somministrata *per os* è in grado di raggiungere inalterata il primo tratto intestinale (Troost *et al.*, 2001). Studi nel topo (Kuwata *et al.*, 1998) e nel ratto (Kuwata *et al.*, 2001) hanno dimostrato che la porzione della molecola attiva nei confronti dei microrganismi conserva la sua efficacia anche dopo il transito nell'intero tratto intestinale. Inoltre, quando sottoposta *in vitro* all'azione della chimosina, la LF è in grado di dare origine a frazioni peptidiche che possono essere più attive della molecola originaria (Hoek *et al.*, 1997).

Relativamente agli effetti sistemici della LF e alle sue capacità protettive nei confronti di infezioni e flogosi di natura non gastroenterica, il meccanismo d'azione rimane comunque ancora poco chiaro. In realtà, non è stata a oggi dimostrata la capacità della mucosa intestinale integra di assorbire la LF, per cui l'ipotesi formulata da alcuni Autori considera i comprovati effetti sistemici della LF come una conseguenza della "comunicazione" tra l'immunità mucosale e quella sistemica (Teraguchi *et al.*, 2004).

Conclusioni

Le nuove acquisizioni in merito all'azione della lisina e della lattoferrina nei confronti di certi virus, e in particolare del *Feline Herpesvirus*, rappresenterebbero il razionale per considerare il loro utilizzo, in associazione, nel trattamento delle infezioni respiratorie del gatto ad eziologia virale.

Al di là degli effetti diretti della LF prima descritti nei confronti delle patologie e degli agenti eziologici in oggetto, che potrebbe essere già di per se di notevole aiuto nel ridurre la gravità del quadro clinico, non va assolutamente trascurata la rilevante attività che la LF esercita sul sistema immunitario. È stata infatti documentata la sua capacità di induzione della produzione di molte citochine, della stimolazione dell'attività di alcune cellule, della promozione della differenziazione linfocitaria, tanto che, come si è visto, alcuni Autori considerano tali proprietà alla base degli effetti sistemici di questa molecola anche quando somministrata per via orale. Come avvenuto in passato per

altre molecole naturalmente prodotte dall'organismo e per le quali è stata ipotizzata una certa efficacia quando somministrate a fini terapeutici nel gatto, l'interazione recettoriale e nucleare della LF con diverse cellule dell'organismo porterebbe a un importante incremento della risposta immunitaria aspecifica che, spesso, risulta determinante nella difesa contro i virus. Questo potrebbe essere particolarmente utile nelle infezioni da *Herpesvirus* e *Calicivirus*, in grado di indurre patologie con quadri clinici variabili intimamente dipendenti dallo stato immunitario dell'ospite.

Inoltre lo spostamento del rapporto Lis/Arg a favore della Lis ha come conseguenza la riduzione della gravità della sintomatologia clinica, ma soprattutto la riduzione della replicazione e dell'escrezione virale. Il razionale farmacodinamico che suggerisce la combinazione delle due molecole, Lis+LF, va ricercato nella diversa fase di intervento nei confronti del virus erpetico: la LF infatti agisce durante la fase di adsorbimento del virus sulla superficie cel-

lulare e durante la fase di penetrazione all'interno della cellula, mentre la Lis è in grado di interferire con il virus alterandone la replicazione.

La possibilità di ridurre la gravità della sintomatologia, ma soprattutto di ridurre la replicazione e l'escrezione virale, costituisce un importante supporto alla gestione dell'infezione da *Herpesvirus* felino. Nel caso della LF va anche considerata la comprovata azione antibatterica, che contribuisce efficacemente al controllo delle infezioni secondarie, che rappresentano una temibile quanto frequente sequela.

Questo alla luce di un approccio curativo razionale e specifico volto a un controllo più efficace della sintomatologia che caratterizza lo stato di portatore cronico di *Herpesvirus*, e soprattutto a una riduzione della replicazione e della diffusione del virus medesimo.

Sono in corso ulteriori studi sperimentali per meglio qualificare l'efficacia di tale associazione e, se del caso, migliorarne il protocollo di utilizzo. ■

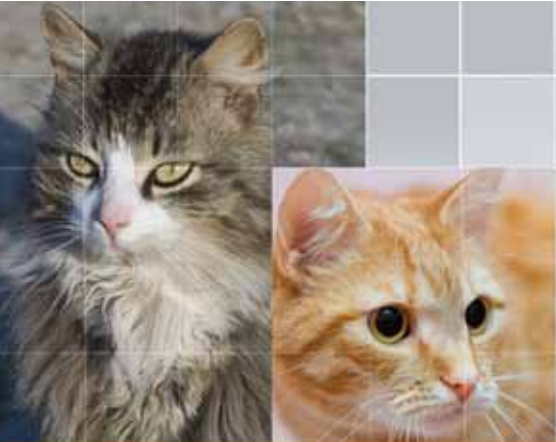
Bibliografia

- 1-Abe H, Saito H, Miyakawa H, Tamura Y, Shimamura S, Nagao E, Tomita M. Heat stability of bovine lactoferrin at acidic pH. *Journal of Dairy Sciences*. 1991; vol. 74: pp. 65-71.
- 2-Addie DD, Radford A, Yam PS, Taylor DJ. Cessation of feline calicivirus shedding coincident with resolution of chronic gingivostomatitis in a cat. *J Small Anim Pract*. 2003; vol. 44: pp. 172-6.
- 3-Ammendolia MG, Marchetti M, Superti F. Bovine lactoferrin prevents the entry and intercellular spread of herpes simplex virus type 1 in Green Monkey Kidney cells. *Antiviral Res*. 2007; vol. 76: pp. 252-62.
- 4-Anon. L-Lysine. Thorne Research, Inc., *Altern Med Rev*. 2007; vol. 12, n. 2: pp. 169-172.
- 5-Appel MJ, van Veen HA, Vietsch H, Salaheddine M, Nuijens JH, Ziere B, de Loos F. Subchronic (13-week) oral toxicity study in rats with recombinant human lactoferrin produced in the milk of transgenic cows. *Food Chem Toxicol*. 2006; vol. 44, n. 7: pp. 964-73.
- 6-Arnold RR, Brewer M, Gauthier JJ. Bactericidal activity of human lactoferrin: sensitivity of a variety of microorganism. *Infect Immun*. 1980; vol. 28: pp. 893-98.
- 7-Beaumont SL, Maggs DJ, Clarke HE. Effects of bovine lactoferrin on *in vitro* replication of feline herpesvirus. *Vet Ophthalmol*. 2003; vol. 6: pp. 245-50.
- 8-Beijaars L, van der Strate BW, Bakker HI, Reker-Smit C, van Loenen-Weemaes AM, Wiegman FC, Harmsen MC, Molema G, Meijer DK. (2004). Inhibition of cytomegalovirus infection by lactoferrin *in vitro* and *in vivo*. *Antiviral Res*. 63: 197-208.
- 9-Bouhanna L. Diagnostic et traitement de l'herpès oculaire chez le chat. *Le Point Vétérinaire*. 2004; vol. 251: pp. 18-24.
- 10-Britigan BE, Serody JS, Cohen MS. The role of lactoferrin as an anti-inflammatory molecule. *Adv Exp Med Biol*. 1994; vol. 357: pp. 143-56.
- 11-Cohen MS, Mao J, Rasmussen GT, Serody JS, Britigan BE. 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*. 1992; vol. 166: pp. 1375-8.
- 12-Crouch SPM, Slater KJ, Fletcher J. Regulation of cytokine release from mononuclear cells by the iron-binding protein lactoferrin. *Blood*. 1992; vol. 80: pp. 235-240.
- 13-De Araújo AN, Giugliano LG. Lactoferrin and free secretory component of human milk inhibit the adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *BMC Microbiol*. 2001; vol. 1: pp. 25.
- 14-Ellison RT 3rd, Giehl TJ, LaForce FM. Damage of the outer membrane of enteric gram-negative bacteria by lactoferrin and transferrin. *Infect Immun*. 1988; vol. 56: pp. 2774-81.
- 15-Fascetti AJ, Maggs DJ, Kanchuk ML, Clarke HE, Rogers QR. Excess Dietary Lysine Does Not Cause Lysine-Arginine Antagonism in Adult Cats. *The Journal of Nutrition*. 2004; vol. 134: pp. 2042S-2045S.
- 16-Gaskell RM, Dawson S. Other Feline Virus Diseases. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger SJ, Feldman EC (eds.), 6th e., Elsevier Saunders, St. Louis; 2005: pp. 667-671.
- 17-Gaskell RM, Povey RC. Experimental induction of feline viral rhinotracheitis virus re-excretion in FVR-recovered cats. *Vet Rec*. 1977; vol. 100: pp. 128-133.
- 18-González-Chávez SA, Arévalo-Gallegos S, Rascón-Cruz Q. Lactoferrin: structure, function and applications. *Int J Antimicrob Agents*. 2009; vol. 4: pp. 301. e1-e8.
- 19-Griffith RS, DeLong DC, Nelson JD. Relation of Arginine-Lysine Antagonism to Herpes simplex Growth in Tissue Culture. *Chemotherapy*. 1981; vol. 27: pp. 209-213.
- 20-Hand MS, Thatcher CD, Remillard RL, Roudebush P. *Small Animal Clinical Nutrition*, 4th e., Mark Morris Institute, Topeka. 2000.
- 21-Hara K, Ikeda M, Saito S, Matsumoto S, Numata K, Kato N, Tanaka K, Sekihara H. Lactoferrin inhibits hepatitis B virus infection in cultured human hepatocytes. *Hepatol Res*. 2002; vol. 24, n. 3: p. 228.
- 22-Hasegawa K, Motsuchi W, Tanaka S, Dosako S. Inhibition with lactoferrin of *in vitro* infection with human herpes virus. *Jpn J Med Sci Biol*. 1994; vol. 47: pp. 73-85.
- 23-Hawkins EC. Patologie dell'apparato respiratorio. In: *Medicina Interna del Cane e del Gatto*, Nelson RW, Couto CG (eds.), 3^a e., Elsevier Masson, Milano, 2007: pp. 219-354.
- 24-Hirai Y, Kawakata N, Satoh K. Concentration of lactoferrin and iron in human milk at different stages of lactation. *J Nutr Sci Vita*. 1990; vol. 36: pp. 531-44.
- 25-Hoek KS, Milne JM, Grieve PA, Dionysius DA, Smith R. Antibacterial activity in bovine lactoferrin-derived peptides. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997; vol. 41: pp. 54-9.



segue Bibliografia

- 26-Ikeda M, Nozaki A, Sugiyama K.** Characterization of antiviral activity of lactoferrin against hepatitis C virus infection in human cultured cells. *Virus Res.* 2000; vol. 66: pp. 51-63.
- 27-Iyer S, Lönnnerdal B.** Lactoferrin, lactoferrin receptors and iron metabolism. *Eur J Clin Nutr.* 1993; vol. 47: pp. 232-41.
- 28-Jenssen H, Sandvik K, Andersen JH, Hancock RE, Gutteberg TJ.** Inhibition of HSV cell-to-cell spread by lactoferrin and lactoferricin. *Antiviral Res.* 2008; vol. 79: pp. 192-8.
- 29-Johansson B.** Isolation of an iron containing red protein from human milk. *Acta Chem. Scand.* 1960; vol. 14: pp. 510-512.
- 30-Kagan C.** Lysine therapy for herpes simplex. *The Lancet.* 1974; vol. 26: pp. 137.
- 31-Kobayashi S, Sato R, Aoki T, Omoe K, Inanami O, Hankanga C, Yamada Y, Tomizawa N, Yasuda J, Sasaki J.** Effect of bovine lactoferrin on functions of activated feline peripheral blood mononuclear cells during chronic feline immunodeficiency virus infection. *J Vet Med Sci.* 2008; vol. 70: pp. 429-435.
- 32-Kobayashi S, Sato R, Inanami O, Yamamori T, Yamato O, Maede Y, Sato J, Kuwabara M, Naito Y.** Reduction of concanavalin A-induced expression of interferon-gamma by bovine lactoferrin in feline peripheral blood mononuclear cells. *Vet Immunol Immunopathol.* 2005; vol. 105: pp. 75-84.
- 33-Kuwata H, Yamauchi K, Teraguchi S, Ushida Y, Shimokawa Y, Toida T, Hayasawa H.** Functional fragments of ingested lactoferrin are resistant to proteolytic degradation in the gastrointestinal tract of adult rats. *J Nutr.* 2001; vol. 131: pp. 2121-7.
- 34-Kuwata H, Yip TT, Yamauchi K, Teraguchi S, Hayasawa H, Tomita M, Hutchens TW.** The survival of ingested lactoferrin in the gastrointestinal tract of adult mice. *Biochem J.* 1998; vol. 334: pp. 321-3.
- 35-Lash JA, Coates J, Lafuze R, Bahener RL, Boxer LA.** Plasma lactoferrin reflects granulocyte activation in vivo. *Blood.* 1983; vol. 61: pp. 885-8.
- 36-Levay PF, Viljoen M.** Lactoferrin: a general review. *Haematologica.* 1995; vol. 80: pp. 252-67.
- 37-Maggs DJ.** Update on Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment of Feline Herpesvirus Type 1. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2005; vol. 20: pp. 94-101.
- 38-Maggs DJ, Collins K, Thorne JG, Nasisse MP.** Effects of L-lysine and L-arginine on in vitro replication of feline herpesvirus type 1. *Am J Vet Res.* 2000; vol. 61, n. 12: pp. 1474-1478.
- 39-Maggs DJ, Lappin MR, Reif JS, Collins JK, Carman J, Dawson DA, Bruns C.** Evaluation of serologic and viral detection methods for diagnosing feline herpesvirus-1 infection in cats with acute respiratory tract or chronic ocular disease. *J Am Vet Med Assoc.* 1999; vol. 214, n. 4: pp. 502-507.
- 40-Maggs DJ, Nasisse MP, Kass PH.** Efficacy of oral supplementation with L-lysine in cats latently infected with feline herpesvirus. *Am J Vet Res.* 2003b; vol. 64, n. 1: pp. 37-42.
- 41-Maggs DJ, Sykes J, Clarke H, Yoo S, Kass P, Lappin M, Rogers Q, Waldron M, Fascetti A.** Effects of dietary lysine supplementation in cats with enzootic upper respiratory disease. *J Feline Medicine & Surgery.* 2003a; vol. 9, n. 2: pp. 97-108.
- 42-Maggs DJ.** Update on Feline Herpesvirus. 29th Annual Winn Feline Symposium, Austin, Texas. 2007.
- 43-Maggs DJ.** L-Lysine Administration for Feline Herpesvirus Infection. *Waltam Symposium,* 2008.
- 44-Marchetti M, Ammendolia MG, Superti F.** Glycosaminoglycans are not indispensable for the anti-herpes simplex virus type 2 activity of lactoferrin. *Biochimie.* 2009; vol. 91: pp. 155-9.
- 45-Marchetti M, Longhi C, Conte MP, Pisani S, Valenti P, Seganti L.** Lactoferrin inhibits herpes simplex virus type 1 adsorption to Vero cells. *Antiviral Res.* 1996; vol. 29: pp. 221-31.
- 46-Marchetti M, Pisani S, Antonini G, Valenti P, Seganti L, Orsi N.** Metal complexes of bovine lactoferrin inhibit in vitro replication of herpes simplex virus type 1 and 2. *Biomaterials.* 1998; vol. 11: pp. 89-94.
- 47-Marchetti M, Superti F, Ammendolia MG, Rossi P, Valenti P, Seganti L.** Inhibition of poliovirus type 1 infection by iron-, manganese-, and zinc-saturated lactoferrin. *Med Microbiol Immunol.* 1999; vol. 187: pp. 199-204.
- 48-Marley MS, Givens MD, Galik PK, Riddell KP, Stringfellow DA.** Lactoferrin from bovine milk inhibits bovine herpesvirus 1 in cell culture but suppresses development of in vitro-produced bovine embryos. *Anim Reprod Sci.* 2009; vol. 12: pp. 423-9.
- 49-Marr AK, Jenssen H, Moniri MR, Hancock RE, Panté N.** Bovine lactoferrin and lactoferricin interfere with intracellular trafficking of Herpes simplex virus-1. *Biochimie.* 2009; vol. 91: pp. 160-4.
- 50-McCann KB, Lee A, Wan J, Roginski H, Coventry MJ.** The effect of bovine lactoferrin and lactoferricin B on the ability of feline calicivirus (a norovirus surrogate) and poliovirus to infect cell cultures. *J Appl Microbiol.* 2003; vol. 95: pp. 1026-33.
- 51-Milman N, Scheibel J, Jessen O.** Lysine prophylaxis in recurrent herpes simplex labialis: a double-blind, controlled crossover study. *Acta Derm Venereol.* 1980; vol. 60, n. 1: pp. 85-7.
- 52-Morinaga Milk Industry CO., LTD.** Biological functions of lactoferrin: Basic Research and applications. 2003.
- 53-Nozaki A, Ikeda M, Naganuma A, Nakamura T, Inudoh M, Tanaka K, Kato N.** Identification of a lactoferrin-derived peptide possessing binding activity to hepatitis C virus E2 envelope protein. *J Biol Chem.* 2003; vol. 278: pp. 10162-73.
- 54-Ogata T, Teraguchi S, Shin K, Kingaku M, Fukuwatari Y, Kawase K, Hayasawa H, Tomita M.** The mechanism of in vivo bacteriostasis of bovine lactoferrin. *Adv Exp Med Biol.* 1998; vol. 443: pp. 239-46.
- 55-Rahman MM, Kim WS, Ito T, Kumura H, Shimazaki K.** Examination of bovine lactoferrin binding to bifidobacteria. *Prkl Biokhim Mikrobiol.* 2008; vol. 44: pp. 529-32.
- 56-Régnier A.** Forme oculari da infezione erpetica. In: *Veterinary Interferon Handbook*, Adie D, Bo S, Buonavoglia C, Camy G, Chabanne L, Charlot Y, Delgadillo L, Hartmann K, Hennet P, Hirschberger J, Horzinek MC, Jongh O, Knotek Z, Lindenmann J, Ogilvie GK, Palus V, Régnier A, Rigaud R, Ritz S, Thyry E, López FV (eds.), 2^a e., Le Point Vétérinaire Italie, Milano. 2008: pp. 162-168.
- 57-Saito N, Takemori N, Hirai K, Onodera R, Watanabe S, Naiki M.** Ultrastructural localization of lactoferrin in the granules other than typical secondary granules of human neutrophils. *Human Cell.* 1993; vol. 6: pp. 42-8.
- 58-Sato R, Inanami O, Tanaka Y, Takase SE, Naito Y.** Oral administration of bovine lactoferrin for treatment of intractable stomatitis in feline immunodeficiency virus (FIV)-positive and FIV-negative cats. *Am J Vet Res.* 1996; vol. 57: pp. 1443-46.
- 59-Seganti L., Di Biase AM, Marchetti M, Pietrantonio A, Tinari A, Superti F.** Antiviral activity of lactoferrin towards naked viruses. *Biometals.* 2004; vol. 17: pp. 295-299.
- 60-Settimi L.** Gengivostomatite felina cronica, una malattia misconosciuta. *La Settimana Veterinaria.* 2007; vol. 88: pp. 24-25.
- 61-Shin K, Yamauchi K, Teraguchi S, Hayasawa H, Tomita M, Otsuka Y, Yamazaki S.** Antibacterial activity of bovine lactoferrin and its peptides against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. *Lett Appl Microbiol.* 1998; vol. 26: pp. 407-11.
- 62-Sorensen M, Sorensen S. P. L.** The proteins in whey. *Compt Rend Lab Carlsberg.* 1939; vol. 23: pp. 55-59.
- 63-Stiles J, Townsend WM, Rogers QR, Krohne SG.** Effect of oral administration of L-lysine on conjunctivitis caused by feline herpesvirus in cats. *Am J Vet Res.* 2002; vol. 63, n. 1: pp. 99-103.
- 64-Superti F., Ammendolia MG, Valenti P, Seganti L.** Antiviral activity of milk proteins: lactoferrin prevents rotavirus infection in the enterocyte-like cell line HT-29. *Med Microbiol Immunol.* 1997; vol. 186: pp. 83-91.
- 65-Tanaka T, Nakatani S, Xuan X, Kumura H, Igarashi I, Shimazaki K.** Antiviral activity of lactoferrin against canine herpesvirus. *Antiviral Res.* 2003; vol. 60: pp. 193-9.
- 66-Teraguchi S, Wakabayashi H, Kuwata H, Yamauchi K, Tamura Y.** Protection against infections by oral lactoferrin: evaluation in animal models. *Biometals.* 2004; vol. 17: pp. 231-4.
- 67-Togawa J, Nagase H, Tanaka K, Inamura M, Nakajima A, Ueno N, Saito T, Sekihara H.** Oral administration of lactoferrin reduces colitis in rats via modulation of the immune system and correction of cytokine imbalance. *J Gastroenterol Hepatol.* 2002; vol. 17: pp. 1291-8.
- 68-Troost FJ, Steijns J, Saris WH, Brummer RJ.** Gastric digestion of bovine lactoferrin in vivo in adults. *J Nutr.* 2001; vol. 131: pp. 2101-4.
- 69-Välilä H, Tenovuo J, Waris M, Hukkanen V.** Human lactoferrin but not lysozyme neutralizes HSV-1 and inhibits HSV-1 replication and cell-to-cell spread. *Virology.* 2009; vol. 6: pp. 53.
- 70-Viani RM, Gutteberg TJ, Lathey JL, Spector SA.** Lactoferrin inhibits HIV-1 replication in vitro and exhibits synergy when combined with zidovudine. *AIDS.* 1999; vol. 13: pp. 1273-1274.
- 71-Wakabayashi H, Kurokawa M, Shin K, Teraguchi S, Tamura Y, Shiraki K.** Oral lactoferrin prevents body weight loss and increases cytokine responses during herpes simplex virus type 1 infection of mice. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2004; vol. 68: pp. 537-44.
- 72-Wang D, Pabst KM, Aida Y, Pabst MJ.** Lipopolysaccharide-inactivating activity of neutrophils is due to lactoferrin. *J Leukoc Biol.* 1995; vol. 57: pp. 865-74.
- 73-Xu G, Xiong W, Hu Q, Zuo P, Shao B, Lan F, Lu X, Xu Y, Xiong S.** Lactoferrin-derived peptides and Lactoferricin chimera inhibit virulence factor production and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Appl Microbiol.* 2010; vol. 109, n. 4: pp. 1311-8.
- 74-Yamauchi K, Hiruma M, Yamazaki N, Wakabayashi H, Kuwata H, Teraguchi S, Hayasawa H, Suegara N, Yamaguchi H.** Oral administration of bovine lactoferrin for treatment of tinea pedis. A placebo-controlled, double-blind study. *Mycoses.* 2000b; vol. 43: pp. 197-202.
- 75-Yamauchi K, Toida T, Kawai A, Nishimura S, Teraguchi S, Hayasawa H.** Mutagenicity of bovine lactoferrin in reverse mutation test. *J Toxicol Sci.* 2000a; vol. 25, n. 2: pp. 63-6.

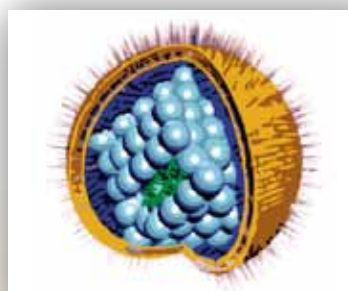


herp

**Lisina e
Lattoferrina**

Mangime complementare per gatti

LISINA e LATTOFERRINA
per integrare la dieta di gatti portatori di
FELINE HERPES VIRUS e FELINE CALICI VIRUS



Apporti:

*Lisina cloridrato 250 mg/ml
(pari a Lisina base 200 mg)
Lattoferrina 60 mg/ml*

Confezioni:

*Flacone 50 ml con contagocce
Flacone 120 ml con siringa dosatrice*



Teknofarma
orino

TORINO - TEL 011/2731702 - 011/2731935 - FAX 011/2740049
www.teknofarma.com - teknofarma@teknofarma.com