

Lactoferrine et Santé

Intérêt de la supplémentation
par voie orale
(un rôle déterminant
dans le métabolisme du fer)

Professeur
Michel Massol⁽¹⁾

Dans le cadre de l'intervention nutritionnelle destinée à prévenir - et à traiter- les maladies (**Nutriprévention-Nutrithérapie**), le recours aux compléments alimentaires s'affirme toujours plus bénéfique dans la prise en charge de la santé. De concert avec les conseils diététiques, il cherche à optimiser les fonctions métaboliques dont dépendent toutes les fonctions physiologiques de l'organisme. Ces compléments sont plus ou moins complexes, constitués d'extraits de produits naturels d'origine végétale et/ou animale, associés généralement à des micronutriments vitaminiques ou minéraux.

Tel est le cas d'une nouvelle formulation⁽²⁾ contenant de la **lactoferrine**, protéine qui **participe à l'apport et au métabolisme du fer**, élément essentiel dont aucune des fonctions cellulaires ne peut s'affranchir. La **lactoferrine** est sécrétée par tous les épithéliums glandulaires et muqueux (particulièrement présente dans le lait maternel), mais aussi par les granules des cellules de l'immunité non spécifique (les monocytes). L'argumentaire ci-après vise à conforter l'image positive de la supplémentation par voie orale, grâce à une formulation dont

la **lactoferrine** provient du lait d'origine bovine.

Les multiples **fonctions biologiques** de la **lactoferrine** furent remarquablement présentées en 1995 par B. Lonnerdal et S. Iyer (1), ainsi que par l'équipe française de l'Université de Lille-CNRS en 2009 dans la revue *Medecine/Science M/S* (A. Pierce, J. Mazurier, D. Legendre) (2). Les plus récentes données expérimentales fondamentales et cliniques ont fait l'objet du XIII^e Congrès International au Japon en novembre 2015 (3).

Le Fer, « notre dangereux ami ! »

Anémie, infections, allergies, arthrites, cancers, troubles comportementaux,... **inflammations diverses, aiguës et chroniques**, avec leur cortège de signes associés, fatigue, douleurs, pâleur, dépression, insomnies,... toutes ces affections sont plus ou moins associées à des **perturbations du métabolisme du fer !** Ce dernier (**Fe**) est parmi les minéraux dans l'organisme, le plus abondant des Eléments Trace Essentiels (ETE ou Oligoéléments) ; c'est l'élément « précieux » pour le transport et l'utilisation de l'oxygène, intervenant dans la « respira-

⁽¹⁾Dr Sc., Dr Med., DERBH, Professeur Honoraire Université Toulouse III.

⁽²⁾**Modufer®** du Laboratoire Health Prevent

tion » cellulaire et le métabolisme oxydant (la vie aérobie !). Mais dont le rôle est souvent terni par les dégâts qu'il engendre lorsque, libre, non complexé et à l'état réduit Fe^{2+} , il devient « toxique » en exacerbant la formation d'espèces actives de l'oxygène (ROS). Il détériore alors les tissus et les organes par amplification des processus inflammatoires !

L'état d'oxydation du fer [Fe(II)/Fe(III)] est en principe maîtrisé, dans l'association à des molécules organiques par la *complexation chimique* de ses orbitales vacantes par des doublets électroniques disponibles sur les atomes d'azote, de soufre, de phosphore appartenant à des aminoacides des chaînes peptidiques ou à des hétérocycles. C'est le rôle dévolu à des protéines globulaires (globulines) pour le véhiculer et le stocker dans l'organisme ; mais aussi à des structures « hémiques » (noyau tétrapyrrole associé à une protéine également globulaire) constitutives de *l'hémoglobine* (qui fixe et relargue l'oxygène de façon ubiquitaire) et des *cytochromes* dans la respiration cellulaire (qui régulent sa propension à échanger des électrons) lors de la phosphorylation oxydative mitochondriale (production énergétique d'ATP).

L'apport alimentaire en fer,

abondant ou insuffisant, les pertes excessives chroniques ou hémorragiques, le recyclage du fer avec la participation du métabolisme hépatique, tous ces facteurs concourent au **statut nutritionnel** de cet élément si important, un « ami qui nous veut du mal ! » dans diverses situations pathologiques. Le fer « *plébéen* », non complexé, devient en effet le catalyseur de la fameuse réaction de *Fenton Haber-Weiss* ; réaction non enzymatique qui accroît la présence d'espèces actives de l'oxygène (ROS), lors de « poussées d'activité respiratoire » qui constituent le substrat du **climat inflammatoire** dont aucune maladie ne fait l'économie.

C'est le cas par exemple de l'amplification des douleurs intestinales lorsque, au prétexte de corriger l'anémie, la prise par voie orale d'ascorbate de fer (fer peu complexé, à l'état réduit Fe^{2+} par la vit C) exacerbe la production de RLO (OH° , RO° ...) et amplifie l'inflammation de la muqueuse, déjà amorcée au cours d'une manifestation de « *l'intestin irritable* » ou d'une « *MICI* » ! Situation à risque qui doit être maîtrisée, car le confort digestif est le premier critère de la satisfaction des besoins nutritifs ; une bonne physiologie intestinale (avec un bon équilibre du

microbiote) est le garant de l'absorption des nutriments ; la supplémentation en lactoferrine peut largement y contribuer !

Biodisponibilité du fer et régulation physiologique

L'absorption et le transport sanguin du fer sont assurés par des protéines vectrices, dont certains acides aminés (His, Asp, Tyr, ...) complexent le fer afin d'éviter tout échange d'électrons. Ce sont la *transferrine* qui assure l'essentiel du transport plasmatique et la *ferritine* qui le met en réserve principalement dans le foie. Au niveau des interfaces des membranes cellulaires -de la muqueuse intestinale comme de multiples cellules endocrines ou immunitaires-, un ensemble complexe de facteurs protéiques (*hepcidine* et *ferroportine*,) participent de la régulation des échanges du fer entre les divers compartiments extra et intra cellulaires ; particulièrement pour son transfert de la lumière intestinale vers le circuit sanguin au niveau digestif.

Dans toutes les sécrétions muqueuses et glandulaires, salive, larmes, bile, liquides des organes reproducteurs... mais surtout dans le lait maternel -pour satisfaire les

besoins du nouveau-né- **le fer est associé** à la *lactoferrine LF* (protéine globulaire comparable à la transferrine **TF**, avec une homologie de structure de l'ordre de 60%, qui l'une comme l'autre fixent réversiblement deux ions ferriques Fe^{3+}). L'affinité de **LF** pour le fer est sensiblement supérieure à celle de **TF** à pH neutre, la faisant considérer plus comme chélateur du fer que comme transporteur, rôle dévolu à cette dernière. La concentration sérique de **LF** est faible ; mais ce taux est augmenté lors d'un processus inflammatoire, suite à l'accroissement du nombre de cellules de l'immunité non spécifique (monocytes et macrophages) et à leur dégranulation, aussi bien sur le lieu d'une inflammation locale, que de manière systémique dans nombre de pathologies chroniques. C'est notamment le cas de la névrologie, dont les cellules sont également productrices de *lactoferrine*, qui est désormais considérée comme facteur participatif aux affections comportementales et dégénératives. Mais c'est à titre de **facteur de défense anti-infectieuse** que la *lactoferrine* a acquis ses lettres de noblesse.

Depuis la découverte de cette protéine (isolée du sang en 1946 par Shade et Caroline qui purent noter

sa capacité à stopper la croissance de certaines bactéries), puis l'étude de son rôle dans la régulation de populations des cellules immunitaires, l'apport exogène de **lactoferrine** est régulièrement l'objet d'interrogations. Aussi bien en termes de correction de carences en fer, que de réduction d'éventuelles inflammations, car la « chélation » du fer réduit sa propension à générer des processus de peroxydation, et accompagne les propriétés intrinsèques de séquences peptidiques, convenablement « repliées » (en 3D) pour leurs actions sur des récepteurs cellulaires (notamment **Nf-κB**).

La supplémentation doit être regardée comme un facteur de régulation du métabolisme du fer, afin d'éviter les excès d'inflammation qui caractérisent les maladies infectieuses et toutes les affections dysimmunitaires (auto-immunes et tumorales), endocriniennes comme neuropsychiques. En fait de toutes les pathologies, car « tout est relié à tout » dans l'organisme, selon le concept de « **régulation neuro-psycho-immuno-endocrinienne** » décrit il y a déjà plus d'une décennie par R. Dantzer ; aucun organe ou tissu n'est isolé, mais « dialogue » avec tous les autres, au moyen des messagers moléculaires (neuromédia-

teurs, cytokines et hormones) qui reconnaissent leurs récepteurs sur les membranes cellulaires de leurs congénères.

Cet aspect moléculaire du métabolisme basé sur l'interaction entre effecteurs et récepteurs, est génétiquement programmé, tout particulièrement pour les activités enzymatiques à l'origine du renouvellement et de la différenciation cellulaire, sans prolifération excessive, ni vieillissement prématuré. Les prédispositions à l'émergence de telle ou telle maladie sont en fait modulées par l'environnement (surtout par l'apport nutritionnel) selon le concept **d'épigénétique**, auquel la supplémentation, adroitement réalisée, offre le bénéfice de l'optimisation des activités enzymatiques qui font tout le métabolisme. La **lactoferrine** paraît devoir y contribuer, si son action au niveau chromosomique (effet « **nutrigénétique** ») se confirme dans les toutes dernières recherches sur ses propriétés biologiques.

Dans le contexte de l'alimentation normale, la supplémentation peut participer à l'optimisation de l'absorption digestive du fer, à son transport plasmatique, au stockage hépatique ; en un mot à sa biodistribution fonctionnelle dans 3

secteurs : -les globules rouges pour ce qui concerne le pool de l'hémoglobine ; -les cellules de l'immunité, des muqueuses, des glandes (dont les neurones !) -les muscles pour la physiologie locomotrice. La formulation retenue pour l'administration par voie orale est **l'association de la lactoferrine à la vitamine D**, pour ses propriétés « hormonales », particulièrement adaptées au système de défenses immunitaires.

Lactoferrine : origine, structure, absorption digestive

La **lactoferrine (LF)** est ici d'origine⁽³⁾ bovine, extraite et purifiée dans des conditions douces de solubilisation en milieu aqueux puis de recristallisation (à température ambiante et pH neutre) permettant de conserver la forme native de cette glycoprotéine de 80 kda de poids moléculaire. Son aspect physico-chimique est conforme aux spécifications réglementaires : fines paillettes, blanc-rosé, de pH 6,7, bactériologiquement pures (absence de tout germe bactérien ; teneur en LPS lipopolysaccharides bactériens : 40 picogrammes/g, inférieure à la norme réglementaire).

Selon le certificat d'ana-

lyse chimique, l'affinité pour le fer est satisfaisante avec un degré de saturation de 15,28%, soit de 22,15µg/100mg d'apoprotéine (100% correspondent à 145µg/100mg) ; le degré de purification mesuré par HPLC/UV est excellent, de 95,1% pour 96% de protéine totale (dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl). La charge électrique globale de la lactoferrine est positive (avec un point isoélectrique basique de 8,0-8,5), résultat de la liaison des aminoacides **Asp, Tyr et His** à l'atome Fe³⁺, tandis qu'un anion CO₃²⁻ s'associe à **Arg**. La présence des molécules **Asn** permet la fixation de résidus glycanes de type N-acétyl galactosamine (plusieurs sites de glycosylation à la surface de la protéine), qui en raison de leur caractère hydrophile favorisent la solubilité de la protéine et la protègent de la dégradation par des agents protéolytiques.

La **lactoferrine** est une glycoprotéine de 700 α-aminoacides -avec une haute homologie de structure parmi diverses espèces- simple chaîne polypeptidique (**structure primaire**) repliée en deux lobes N- et C-terminal. Elle est globalement de **structure tertiaire** globulaire : chacun de ses lobes complexant un atome

⁽³⁾Française native et non d'origine recombinante grâce à des levures, champignons ou bactéries au génome modifié.

de fer (contrôle cristallographique et spectrométrie par Anderson et al. [4]). La structure primaire⁽⁴⁾ de **LF** précise aussi le nombre et la position des résidus **Cys** qui permettent la formation intramoléculaire des ponts disulfures S-S, nécessaires à la conformation en hélice alpha majoritaire par rapport aux feuillets bêta. Ainsi la structure 3D de la **lactoferrine** est adaptée à la meilleure réversibilité de la fixation du fer, entre l'apo-LF (conformation « ouverte » sans Fe³⁺) et holo-LF (conformation « fermée » avec Fe³⁺).

L'ensemble de ces propriétés structurales confère à la LF une grande résistance à la protéolyse enzymatique lors de la digestion, ainsi qu'une bonne « rétention » du fer au pH gastrique et très acide (propriété exclusive de **LF**, parmi les autres transferrines). **LF** n'étant pas dégradée dans le parcours du tube digestif, la voie orale⁽⁵⁾ est la meilleure et la plus simple pour assurer l'homéostasie du fer et le maintien des propriétés biologiques au niveau plasmatique et cellulaire. L'absorption au niveau de la muqueuse intestinale requiert des récepteurs spécifiques répartis sur la bordure en brosse. De plus

LF contribue à « réparer » cette muqueuse en cas de pathologie inflammatoire, en corrigeant l'hyperperméabilité acquise (cf. ci-après).

Propriétés biologiques de la lactoferrine (synergie fer et structure peptidique)

La **lactoferrine** est considérée comme l'élément clé de la première ligne de défense de l'organisme, en raison de sa capacité à répondre à une grande variété de changements physiologiques et d'agressions environnementales (par ex review : « Lactoferrin : structure, function and applications, S.A. Gonzalez-Chavez et al. 2009 » [5]). Ses caractéristiques fonctionnelles, liées à la structure des séquences peptidiques et à l'activité catalytique du fer, lui confèrent une forte activité antimicrobienne [6,7] (contre un large spectre de bactéries, virus, parasites, levures et champignons) ainsi qu'une certaine activité anti-inflammatoire et anti-tumorale [8].

Mais elle constitue avant tout un **support essentiel à l'équilibre du « statut en fer » de l'organisme** ; tout au moins dans les premiers mois de la vie, grâce à

son apport au cours de l'allaitement maternel [que d'aucuns aujourd'hui cherchent à réhabiliter [9], comme nous-même ⁽⁶⁾ en 1998]. Il est reconnu depuis plusieurs décennies que les nouveau-nés nourris au sein sont exempts de carences en fer ; tandis que le risque élevé de déficience en fer -et de pathologies associées plus tard dans la vie- est corrélé à la consommation de laits infantiles déficients en fer [10,11]. La découverte de récepteurs spécifiques sur les entérocytes [12,13] à forte affinité pour la structure protéique est en faveur de cette fonction nutritive de la **lactoferrine** ; bien que d'autres études aient pu montrer que la perte de ces récepteurs n'affectait pas fondamentalement l'absorption intestinale du fer d'une autre origine [14], laissant encore quelques incertitudes sur ces mécanismes du transfert intestinal (malgré la découverte du rôle⁽⁷⁾ de **l'hepcidine** [15] et de la **ferroportine**).

Concernant les **activités anti-infectieuses** (bactéries, levures et parasites), deux mécanismes sont

proposés : **-le premier concerne la séquestration du fer par la LF** qui privent ces micro-organismes du fer nécessaire à leur biologie ; **-le second l'interaction structurale de séquences peptidiques de LF avec des lipides de leur membrane**, modifiant leur intégrité (lyse cellulaire liée à la présence de LPS des bactéries gram- ou à celle d'acide lipotéichoïque des gram+) ; de surcroît la potentialisation de l'action du lysozyme favorise dans tous les cas cette lyse cellulaire. En outre **LF** a la propriété de prévenir la fixation de certaines bactéries aux cellules hôtes. Ce mécanisme d'inhibition est mal connu ; l'hypothèse d'une liaison entre oligo-mannoside glycanes de **LF** avec des adhésines des bactéries préviendrait l'interaction de celles-ci avec des récepteurs des cellules hôtes [16]. Vis-à-vis des virus, **LF** agirait également en inhibant leur internalisation dans la cellule hôte, par fixation (et blocage) de glyco-aminoglycanes de celle-ci (particulièrement des groupes héparanes sulfates). Bon

⁽⁶⁾M. Massol, **Allaitement maternel et lait de vache (à propos du développement du système nerveux central et de l'immunité de l'enfant)**. Aesulape RIMNC, 1998, 10 :21-27.

⁽⁷⁾L'hepcidine, un frein sur l'absorption intestinale du fer : synthétisée par le foie et sous le contrôle positif de la BMP6 (Bone Morpho Protein) elle inhibe la ferroportine qui favorise l'absorption du fer. Ainsi une carence en fer se traduit par une baisse d'hepcidine, de façon à corriger l'anémie associée par amélioration de l'absorption du fer. Une hyperferritinémie (telle celle de l'hémochromatose) pourrait être traitée par un agoniste de l'hepcidine ou de la BMP6.

⁽⁴⁾Pour une revue récente sur la structure de la lactoferrine, consulter la référence 5 (bibliographie)

⁽⁵⁾Sur le plan technologique des essais de micro-encapsulation sous forme de liposomes pourraient encore améliorer cette résistance à la dégradation digestive ainsi que l'absorption.

nombre de ces effets biochimiques sont attribuables à des séquences peptidiques de la lactoferrine, telle la **lactoferricine B (LFcB)**, qui une fois isolées montrent une activité anti-infectieuse supérieure.

Les propriétés anti-inflammatoires et immuno-modulatrices de la **lactoferrine** sont connues depuis longtemps, car les sujets ayant une déficience innée ou acquise en **LF** sont sujets à des infections récurrentes (17). Chez la souris en 2006, Wakabayashi et al.(18) a montré par la technique RT-PCR⁽⁸⁾, qu'à la dose de 2,5g/kg, **LF** module de façon positive l'expression d'une vingtaine de gènes reliés à l'immunité du tube digestif (via diverses protéines associées à la lutte antimicrobienne, à la mobilité des cellules immunitaires, aux récepteurs lymphocytaires,...) ; c'est un exemple concret de **nutrigénétique**, par action directe au niveau de l'ADN avec activation de certaines voies de signalisation. La charge électrique globale positive de **LF** contribuerait à sa fixation sur des molécules chargées négativement à la surface de plusieurs cellules immunitaires (19), pour déclencher cette signalisation orientée vers leur activation, différenciation et prolifération.

Cette stimulation immu-

nitaire a pu être particulièrement analysée au niveau cutané, contre le processus allergique par inhibition de la migration des cellules de Langerhans et de l'accumulation de cellules dendritiques dans les ganglions lymphatiques. L'effet anti-inflammatoire systémique de **LF** résulte de l'inhibition de la sécrétion de plusieurs cytokines IL1, IL6, TNF, INF γ (20) et de l'accroissement du nombre de cellules phagocytaires et NK. Diverses études cliniques chez l'homme ont montré -déjà en 1998- (21,22) les effets bénéfiques de l'ingestion de lactoferrine bovine sur le statut immunitaire des patients (avec une baisse significative des populations lymphocytaires pro-inflammatoires).

En **cancérologie**, les mêmes cytokines sont concernées par l'action de **LF** sur des tumeurs expérimentales chez la souris, inhibant de l'ordre de 60% leur croissance, comparativement à un effet placebo (23). Des études *in vivo* chez l'homme ont montré l'effet « anti-cancer » de l'administration orale de **LF**, notamment par l'inhibition des tumeurs T-cell dépendantes sur des carcinomes squameux de la tête et du cou (24). La **lactoferrine** paraît donc jouer un rôle de surveillance de la

croissance des cellules, au carrefour des processus moléculaires du cycle (division) et de la mort (apoptose) cellulaires (25,26). L'un des mécanismes identifiés, concerne la **sur-expression du gène de la protéine P53 (suppresseur de tumeur), via l'activation du facteur de transcription nucléaire Nf- κ B** (27) (au cœur des processus de peroxydation). En outre les propriétés anti-angiogéniques (28) spécifiques⁽⁹⁾ de la **lactoferrine** bovine permettent *in vivo* une forte réduction de la croissance tumorale et de la dissémination vasculaire de métastases (s'opposant à la néovascularisation qui favorise la migration de cellules endothéliales).

L'approche métabolique du processus tumoral⁽¹⁰⁾, par effet de modifications enzymatiques de la glycolyse énergétique et du cycle de Krebs, n'a -à notre connaissance- pas encore portée sur le rôle éventuel de la **lactoferrine**. Sa participation (grâce au fer) au cycle de l'acide citrique et à la phosphorylation oxydative (respiration cellulaire) donnent à penser qu'elle pourrait par des mécanismes enzymatiques participer au contrôle de l'émer-

⁽⁹⁾La lactoferrine humaine ayant à l'opposé un effet pro-angiogénique *in vitro* par surexpression du récepteur du VEGF (vascular endothelial growth factor) !.

⁽¹⁰⁾La restriction calorique, l'action d'inhibition d'enzymes de la glycolyse aérobie, contribuent à réduire la prolifération et la dissémination tumorale (travaux de l'équipe de Laurent Schwartz).

gence et de la croissance de processus tumoraux. Car la capacité de la **LF** à fonctionner comme un système enzymatique a été authentifiée en termes d'hydrolyse moléculaire, activités de type amylase, DNase, RNase, ATPase (29). La conformation de la structure protéique, le degré de glycosylation, la fixation ou non de fer (apo- ou holo-LF), participeraient de ces variantes d'actions enzymatiques. Ces interrogations sur la synergie des effets du fer et de la structure protéique justifient encore la poursuite de recherches fondamentales biochimiques ; **questions qui ne doivent cependant pas faire oublier l'intérêt de la lactoferrine en clinique humaine.**

Applications cliniques de la lactoferrine bovine

Devant tant de propriétés biologiques reconnues, on ne peut négliger le recours à la supplémentation par voie orale de **lactoferrine** pour prévenir (ou aider à guérir) de multiples maladies. Le nombre d'expérimentations chez l'animal et d'études cliniques est impression-

⁽⁸⁾ RT-PCR : étude quantitative de l'expression de gènes par «Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction»

nant qui lèvent le doute sur l'intérêt de cette pratique, malgré les rapports peu encourageants de l'AFSSA en 2006 et 2008 (30,31). Le dernier rapport concluait par des restrictions⁽¹¹⁾ pour la mise sur le marché d'aliments destinés à des fins pédiatriques enrichis en lactoferrine (avec recommandation de limiter la dose à 20mg/kg de poids corporel/jour). Ces rapports ne mentionnaient cependant aucun obstacle à la formulation de compléments alimentaires destinés à la prescription médicale pour la prise en charge de très nombreuses affections.

Sur la base des études fondamentales et cliniques, qui depuis lors se sont multipliées (3), les allégations du nouveau complément nutritionnel pourraient être orientées vers les **indications suivantes** (liste et bibliographie non exhaustives) :

-prévention ou correction des déséquilibres du statut en fer (anémies des carences martiales) chez la parturiente (32-34), la mère allaitante et le nourrisson (35) (étude pilote sur l'intérêt de la supplémentation par des laits infantiles enrichis en lactoferrine).

-amélioration des fonctions digestives intestinales, concernant l'absorption des nutriments et l'équilibre de la flore intestinale : -relations positives entre **lactoferrine et microbiote intestinal** (36) ; -lutte contre l'hyperperméabilité de la muqueuse intestinale [expérimentation sur l'effet d'un peptide issu de lactoferrine porcine, capable de maintenir l'état des « tight junctions », desmosomes de la muqueuse intestinale (37)] ; -approche thérapeutique de la maladie de Crohn.

-potentialisation des défenses immunitaires contre les processus infectieux, notamment pulmonaires [granulomes tuberculeux (38)] et digestifs [infection à clostridium difficile (39) ; lutte contre les infections virales à HVC (hépatite C) (40) et HIV (SIDA) (41)].

-réduction des processus inflammatoires systémiques, particulièrement de la sphère **ostéo-articulaire** [traitement de l'arthrite par réduction de la synthèse de TNF α (42), prévention de l'ostéoporose (43, 44) en relation avec la sécrétion de BMP qui module celle de l'hepcidine] et **neuro-musculaire** [fibromyalgie, RLS (*restless legs syndrom*, syndrome des jambes sans repos)] ; mais aussi cutanée et muqueuse (protection de

la peau contre les UV ; hygiène bucco-dentaire).

-gestion des affections métaboliques et hormonales : hypercholestérolémie, traitement de l'obésité et du diabète II ; syndrome NASH (non-alcoholic steatohepatitis) ; dysfonctions ovariennes et infertilité.

-contribution à la thérapie comportementale en raison du caractère inflammatoire des neurones et de la névroglie, associé aux troubles psychiques (prévention des troubles anxieux et dépressifs) ; intérêt dans la prise en charge de l'autisme et du syndrome d'hyperactivité avec déficit d'attention (TDAH).

-enfin **participation à la thérapie des cancers**, par effet métabolique sur le processus tumoral (quelques amorces de traitement du cancer gastrique (45) et des lymphomes laissent bien augurer d'un succès thérapeutique pour la lactoferrine dans ces indications).

Présentation, formulation et indications du nouveau complément à base de lactoferrine bovine

Le champ d'application de la supplémentation en **lactoferrine** est donc très vaste. Aucune des fonctions de l'organisme n'est exclue du bénéfice préventif et thérapeutique de cette ferroprotéine. La présence de **vitamine D** dans la formulation proposée (**Modufer**)

orienté d'abord vers la **prévention anti-infectieuse**, cette dernière potentialisant également les fonctions immunitaires. Mais sur la base des résultats des études cliniques les plus récentes, **la principale indication doit être l'optimisation de la fonction de reproduction chez la femme (statut en fer et développement foetal ; prévention des accouchements prématurés)** dans une période (avant, pendant et après la grossesse) où le risque d'anémie par déficience en fer est fréquent (alimentation insuffisamment diversifiée ; infection).

En effet, cette formulation correspond aux apports utilisés dans diverses études cliniques (versus placebo et par comparaison à l'administration de sulfate ferreux FeSO₄) montrant l'intérêt de **LF** dans la lutte contre l'anémie durant la grossesse (32, 33). A la dose de 200mg/j, sans autre administration de sels dans lesquels le fer est peu -ou pas- complexé (sulfate, chlorure, ascorbate), la **lactoferrine influence directement l'homéostasie du fer pour son transfert de l'intestin vers le sang**. En comparaison, l'amélioration des taux sanguins d'hémoglobine et du fer sérique total, est bien moindre lors de l'administration de 520mg/j de sulfate ferreux, sur la même durée de 30 jours, accompagnée d'effets secondaires marqués (nausées, vomissements, douleurs abdominales, diarrhées) absents

⁽¹¹⁾Tenir compte de la dénaturation possible de LF lors de son incorporation aux aliments ; contrôler la présence éventuelle de IGF-1 ; faire l'objet d'études cliniques montrant les bénéfices pour le nourrisson ; mentionner l'origine bovine et faire des évaluations spécifiques nécessaires aux allégations proposées.

lors de la supplémentation en **LF**. L'amélioration des paramètres hématologiques s'accompagne chez la femme enceinte d'une réduction de la teneur plasmatique en **IL6** et d'un accroissement de la pro-hepcidine, contrairement à l'effet inverse⁽¹²⁾ obtenu avec le sulfate ferreux [33] (en 2010).

La modulation de la synthèse des paramètres sériques **IL6** et pro-hepcidine par **LF** paraît donc favorable au métabolisme du fer dans l'organisme. La plus récente étude conduite par Paesano en 2014 [46] sur la sûreté et l'efficacité de **LF** versus FeSO_4 , conclut par le même avantage de la lactoferrine ; elle corrige l'anémie par carence en fer (avec baisse significative du taux sérique de IL6), chez les femmes enceintes atteintes de thrombophilie héréditaire. Une étude prospective [47] réalisée en 2009, randomisée, contrôlée, en double aveugle comparative des effets de **LF** et FeSO_4 concluait à un effet similaire de ces deux suppléments sur les paramètres hématologiques sériques (Hb, ferritinémie, ferritémie, capacité totale de fixation de fer), au

⁽¹²⁾Augmentation de IL6 (cytokine clé d'un processus inflammatoire systémique) et réduction de pro-hepcidine : le fer ferreux traduit bien ici son effet inflammatoire sur le terrain hormonal sensible durant la grossesse ; tandis que LF chez la femme non enceinte n'élève que la pro-hepcidine sans modifier le taux normal et bas de IL6 (modulation de l'absorption intestinale du fer sans effet pro-inflammatoire associé).

détriment cependant de ce dernier, source d'effets secondaires gastro-intestinaux majeurs.

Concernant les effets préventifs de la lactoferrine par voie orale sur d'éventuels accouchements prématurés, corrélés à un état inflammatoire due à une infection vaginale, deux études [48,49] montrent qu'à la dose de 200mg/j, la normalisation de la flore vaginale et la diminution des sécrétions d'IL6 dans le fluide cervico-vaginal -et au niveau sanguin- s'accompagnent d'un prolongement normal de la grossesse. Cet effet systémique est potentialisé par un effet local de la lactoferrine au niveau muqueux vaginal⁽¹³⁾ [48].

Ces diverses études confirment donc que la lactoferrine bovine est une alternative plus sûre et efficace que le sulfate ferreux pour traiter la déficience en fer et l'anémie associée durant la grossesse (IDA : Iron Deficiency Anemia). Toutes

⁽¹³⁾Outre les formulations pour voie orale, des administrations de LF par voie vaginale ont été conduites en prévention de risques de naissance avant terme (associés à la hausse de IL6 de la muqueuse et un raccourcissement du col) ; résultats significatifs avec baisse de IL6 et accroissement de la taille du col, chez des femmes ayant eu des contractions avant la 37ème semaine de gestation (50). De même à la dose de 300mg de LF par ovule, l'administration vaginale diminue la concentration amniotique de IL6, jouant un rôle protecteur contre des complications de la grossesse, notamment le risque d'avortement secondaire à une amniocentèse (51).

les autres indications évoquées ci-dessus restent à l'appréciation des cliniciens, afin d'adapter la supplémentation à chaque situation particulière tenant compte des signes cliniques et des antécédents personnels et familiaux.

La posologie préconisée chez l'adulte est de 200 mg/j (2 gélules à 100mg), bien inférieure à la dose acceptée par l'AFSSA en expérimentation clinique humaine, dans des conditions de sécurité absolue en raison de l'absence totale de toxicité de la **lactoferrine bovine** [(telle qu'agrée par exemple par la FDA aux USA [52]). La seule restriction pourrait être la « **dénaturation** » de la structure tertiaire protéique (**conformation**) au cours des procédés d'extraction et de purification à partir du lait de vache ; dénaturation susceptible de créer des phénomènes d'allergie ou d'intolérance digestive, à l'image de ce que la clinique révèle pour la caséine des laits industriels, conditionnés et stérilisés par effets thermiques abusifs (inconvenients majeur du procédé UHT !)

Ce qui exclut pour la préparation des gélules contenant de la **lactoferrine bovine d'origine française** (comme c'est ici le cas) :

-tout recours à des procédés d'extraction drastiques, d'ultrafiltration, de centrifugation, avec effets de température, de pression, ou encore d'irradiation (!)

-ainsi que la présence dans l'extraction de toute autre protéine du lait, dont le facteur de croissance IGF-1 associé à un risque accru de cancer (référence aux travaux de Walter Willett notamment).

Il ne fait aucun doute que la supplémentation en lactoferrine dans la pratique clinique quotidienne doit être appréciée, aussi bien par les patients que par les praticiens de santé. La multiplication d'études en double aveugle contre placebo apportera tout le crédit scientifique souhaitable pour une reconnaissance de ce type de pratique médicale par les autorités de tutelle de la sécurité alimentaire et par le système médical académique.

Le conseil diététique délivré par le praticien de santé, assorti d'une prescription personnalisée de lactoferrine associée à d'autres micronutriments, doit être le meilleur garant de l'efficacité attendue de cette pratique ; l'automédication qui pourrait en résulter ne poserait aucun problème de risque toxique, étant donné la totale innocuité de la lactoferrine et de ses congénères dans une formulation polyvalente, basée sur la synergie d'action de plusieurs micronutriments dans le respect des apports quotidiens recommandés.

M. Massol, Février 2016

Bibliographie

- [1] B. Lonnerdal and S. Iyer. **Lactoferrin : molecular structure and biologicals functions**. Annual Reviews in Nutrition, 1995, 15:93-110.
- [2] A. Pierce *et al.*, **La lactoferrine : une protéine multifonctionnelle**. Médecine/Science M/S, 2009, 25 : 361-369.
- [3] XIIIth Int. Conf. on Lactoferrin. Nagoya, Japan, Nov. 02-06/2015 [Scientific Committee :B. Lonnerdal (President USA) ; EN. Baker (New Zeland) ; N. Leon-Sicairos (Mexico) ; A. Pierce (France) ; A. Schryvers (Canada) ; K.Shimazaki Japan) ; H. Tsuda (Japan) ; P. Valenti (Italy) ; H. Vogel (Canada) ; J. Wang (China)].
- [4] BF. Anderson *et al.*, **Structure of human lactoferrin : cristallographic structure analysis and refinement at 2.8Å resolution**, J Biol Mol, 1989, 209:711-734.
- [5] SA. Gonzalez-Chavez *et al.*, **Lactoferrin : structure, function and applications**. International J. of Antimicrobial Agents, 2009, 33 :301.e1-301.e8.
- [6] DA. Rodriguez *et al.*, **Antimicrobial mechanisms and potential clinical applications of lactoferrin**. Rev Latinoam Microbiol, 2005, 47:102-111.
- [7] K. Yamauchi *et al.*, **Bovine lactoferrin: benefits and mechanism of action against infections**. Biochem Cell Biol, 2006, 84:291-296.
- [8] OM. Connelly, **Antiinflammatory activities of lactoferrin**. J Am Coll Nutr, 2001, 20(5 suppl.):389S-395S.
- [9] CG Victora *et al.*, **Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect**. The Lancet, 2016; 387 (10017).
- [10] UM. Saarinen *et al.*, **Iron absorption from infant milk formula and the optimal level of iron supplementation**. Acta Paediatr Scand , 1977, 66:719-722.
- [11] MA. Simes *et al.*, **Exclusive breast-feeding for 9 months: risk of iron deficiency**. J Pediatr, 1984, 104:106-109.
- [12] S. Lier and B. Lonnerdal, **Lactoferrin, lactoferrin receptors and iron metabolism**. Eur J Clin Nutr, 1993,47:232-241.
- [13] YA. Suzuki *et al.*, **Mammalian lactoferrin receptors: structure and function**. Cell Mol Life Sci, 2005,62:2560-2575.
- [14] PP. Ward *et al.*, **Iron status in mice carrying a targeted disruption of lactoferrin**. Mol Cell Biol, 2003, 23:178-185.
- [15] E. Nemeth and T. Ganz, **Regulation of iron metabolism by hepcidin**. Annu Rev Nutr. 2006 ,26:323-42.
- [16] SME. Drago, **Actividades antibacterianas de la lactoferrina**. Enf Inf Microbiol, 2006,26:58-63.
- [17] D. Legrand *et al.*, **Interaction of lactoferrin with cells involved in immune functions**. Biochem Cell Biol, 2006, 84:282-290.
- [18] H. Wakabayashi *et al.*, **Modulation of immune-related gene expression in small intestine of mice by oral administration of lactoferrin**. Clin Vaccine Immunol, 2006, 13:239-245.
- [19] EN. Baker *et al.*, **Lactoferrin molecular structure; binding properties and dynamics of lactoferrin**. Cell Mol Life Sci, 2005, 62:2531-2539.
- [20] SPM. Crouch *et al.*, **Regulation of cytokine release from mononuclear cells by iron-binding protein lactoferrin**. Blood, 1992, 80:235-240.
- [21] M. Zimecki *et al.*, **Immunoregulatory effects of nutritional preparation containing bovin lactoferrin orally by healthy individuals**. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 1998, 46(4):231-240.
- [22] K. Yamauchi *et al.*, **Effects of orally administered bovine lactoferrin on the immune system of**

healthy volunteers. Adv Exp Med Biol, 1998, 443:261-265.

- [23] WP. Wang *et al.*, **Activation of mucosal intestinal immunity in tumor-bearing mice by lactoferrin**. Jpn J Cancer Res, 2000, 91:1022-1027.
- [24] JS. Wolf *et al.*, **Oral lactoferrin results in T cell-dependent tumor inhibition of head and neck squamous cell carcinoma in vivo**. Clin cancer Res, 2007,13:1601-1610.
- [25] J. Bezault *et al.*, **Human lactoferrin inhibits growth of solid tumor and development of experimental metastases in mice**. Cancer Res, 1994, 54:2310-2312.
- [26] H. Tsuda *et al.*, **Cancer prevention by bovine lactoferrin and underlying mechanisms : a review of experimental and clinical studies**. Biochem Cell Biol,2002, 80:131-136.
- [27] SM. Oh *et al.*, **Neutrophil lactoferrin regulates the human p53 gene through induction of NF-kappaB activation cascade**. Oncogene, 2004, 23:8282-91.
- [28] T. Takata, **Bovine lactoferrin specifically inhibits tumor angiogenesis** XIIIth Int. Conf. on lactoferrin Nagoya Japan 02-06 nov 2015.
- [29] AS. Devy *et al.*, **Lactoferrin contains structural motifs of ribonuclease**. Biochem Biophys Acta, 1994, 114:299-306.
- [30] Afssa - Saisine 2005-SA-0240 : **Avis du 21 avril 2006** relatif à l'évaluation de l'emploi de lactoferrine dans un complément alimentaire.
- [31] Afssa – Saisine 2008-SA-0216 : **Avis du 2 septembre 2008** relatif à l'évaluation du rapport d'évaluation initial établi par les autorités belges concernant la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire : la lactoferrine bovine, dans le cadre du règlement 258/97/CE
- [32] R. Paesano *et al.*, **Oral administration of lactoferrin increases hemoglobin and total serum iron in pregnant women**, Biochem Cell Biol, 2006, 84: 377-380.
- [33] R. Paesano *et al.*, **Lactoferrin efficacy versus ferrous sulfate in curing iron disorders in pregnant and non-pregnant women**. Int J Immunopathol Pharmacol. 2010 Apr-Jun;23(2):577-587.
- [34] E. M. Miller, **The reproductive ecology of iron in women**. Am J Phys Anthropol, 2016 Jan;159(Suppl 61):S172-195
- [35] J.C.King *et al.*, **A double-blind, placebo-controlled, pilot study of bovine lactoferrin supplementation in bottle-fed infants**, J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2007, 44: 245-51.
- [36] AM. Davila *et al.*, **Effets de l'ingestion conjointe de probiotiques et de lactoferrine sur la flore fécale et l'immunité**. Nutrition Clinique et Métabolisme, 2010, 24(81):137-138.
- [37] Xin Zong, *et al.*, **Porcine lactoferrin-derived peptide LFP-20 protects intestinal barrier by maintaining tight junction complex and modulating inflammatory response**. Biochem Pharmacol 2016 Jan 14. Epub 2016 Jan 14.
- [38] J. K. Actor, **Lactoferrin: A Modulator for Immunity against Tuberculosis Related Granulomatous Pathology**. Mediators Inflamm 2015 14;2015:409596. Epub 2015 Dec 14.
- [39] CH. Chilton *et al.*, **Potential of lactoferrin to prevent antibiotic-induced Clostridium difficile infection**. J Antimicrob Chemother 2016 Jan 11. Epub 2016 Jan 11.
- [40] S. Okada *et al.*, **Dose-response trial of lactoferrin in patients with chronic hepatitis C**, Jpn J Cancer Res, 2002, 93:1063-1969.
- [41] RM. Viani *et al.*, **Lactoferrin inhibits HIV-1 replication in vitro and exhibits synergy when combined with zidovudine**. AIDS,1999, 13:1273-1274.
- [42] I. Toshihiro *et al.*, and T. Takata, **Molecular Mechanisms of the Inhibitory Effects of Bovine Lactoferrin on Lipopolysaccharide-mediated Osteoclastogenesis** J Biol Chem. 2012 Jul 6; 287(28): 23527-23536.
- [43] J. Cornish *et al.*, **Lactoferrin and bone; structure-activity relationships**. Biochem Cell Biol, 2006, 84:297-302.
- [44] A. Malet *et al.*, **Relation entre l'amélioration du statut osseux induite par la lactoferrine et**

- ses capacités immuno-stimulantes. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 2010, 24(81):34.
- (45) L. Gengqiu *et al.*, **Lactotransferrin expression is downregulated and affects the mitogen-activated protein kinase pathway in gastric cancer.** *Oncol Lett.* 2015 May; 9(5): 2409–2413.
- (46) R. Paesano *et al.*, **Safety and efficacy of lactoferrin versus ferrous sulfate in curing iron deficiency and iron deficiency anaemia in hereditary thrombophilia pregnant women: an interventional study.** *Biometals.* 2014 Oct;27(5):999-1006.
- (47) C. Nappi *et al.*, **Efficacy and tolerability of oral bovine lactoferrin compared to ferrous sulfate in pregnant women with iron deficiency anemia: a prospective controlled randomized study.** *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2009;88(9):1031-1035.
- (48) R. Paesano *et al.*, **Bovine lactoferrin in preventing preterm delivery associated with sterile inflammation.** *Biochem Cell Biol.* 2012 Jun;90(3):468-475.
- (49) G. Giunta *et al.*, **Influence of lactoferrin in preventing preterm delivery: a pilot study.** *Mol Med Rep.* 2012 Jan;5(1):162-166.
- (50) M. Locci *et al.*, **Vaginal lactoferrin in asymptomatic patients at low risk for pre-term labour for shortened cervix: cervical length and interleukin-6 changes.** *J Obstet Gynaecol.* 2013 Feb;33(2):144-148.
- (51) F. Vesce *et al.*, **Vaginal lactoferrin administration before genetic amniocentesis decreases amniotic interleukin-6 levels.** *Gynecol Obstet Invest.* 2014; 77 (4): 245-249.
- (52) FDA (2001) GRAS Notice No. GRN 000077: **Milk-derived lactoferrin**, Food and Drug Administration USA.

Lactoferrine et Santé

**Intérêt de la supplémentation
par voie orale
(un rôle déterminant
dans le métabolisme du fer)**

Michel Massol