УДК 615.07:615.373

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИКОМПЛЕМЕНТАРНОЙ АКТИВНОСТИ И АКТИВАТОРА ПРЕКАЛЛИКРЕИНА В ЛЕКАРСТВЕННОМ СРЕДСТВЕ «ИММУНОГЛОБУЛИН ЧЕЛОВЕКА НОРМАЛЬНЫЙ pH 4,0»

Е.И. Хилькович, А.И. Тихая, магистранты
Научный руководитель – **Т.В. Козлова**
Филиал республиканского научно-практического центра трансфузиологии и медицинских биотехнологий,
Полесский государственный университет»

Введение. Иммуноглобулин человека нормальный для внутривенного введения относится к категории жизненно необходимых лекарственных средств, применяемых при иммунодефицитных состояниях и аутоиммунной патологии. Несмотря на нанофильтрацию и вирусную инактивацию при низком pH, в готовом лекарственном средстве могут сохраняться примеси белков плазмы, способные запускать нежелательные патофизиологические каскады непосредственно в кровотоке реципиента. К числу наиболее значимых факторов риска развития инфузионных реакций немедленного типа относят антикомплементарную активность, обусловленную агрегатами молекул иммуноглобулина, и остаточное содержание активатора прекалликреина – фермента, инициирующего калликреин-кининовую систему и способного вызывать гипотензивные эпизоды [1, с. 50]. Фармакопейные стандарты устанавливают жёсткие пределы для этих показателей: антикомплементарная активность не должна превышать 50 % от общего комплемента в тест-системе, а содержание активатора прекалликреина – 35 МЕ/мл [2, 3].

Материалы и методы. Исследование выполнено на базе филиала ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий». Анализировали образцы готового лекарственного средства иммуноглобулина с концентрацией белка 50 мг/мл.

Определение антикомплементарной активности проводили методом ингибирования комплемент-опосредованного гемолиза. В ходе анализа использовали свежеприготовленный желатин-солевой буфер (pH 7,3 ± 0,1), стандартизованную 5 % суспензию эритроцитов барана (плотность 1×10^9 клеток/мл), гемолитическую сыворотку, комплемент морской свинки и стандартный образец Human immunoglobulin for anticomplementary activity BRP (стандартный образец иммуноглобулина человека для определения антикомплементарной активности Европейской фармакопеи) в качестве положительного контроля. После титрования гемолизина и комплемента с определением 50 % гемолитической единицы (CH_{50}) испытуемый образец инкубировали с комплементом, затем вносили сенсибилизированные эритроциты и регистрировали остаточную гемолитическую активность спектрофотометрически при 541 нм. Долю связанного комплемента рассчитывали относительно контрольной пробы без иммуноглобулина [2].

Содержание активатора прекалликреина определяли хромогенным методом. После разведения лекарственного средства до концентрации 30 мг/мл трис-буфером проводили активацию прекалликреина с последующим расщеплением синтетического пептидного субстрата и высвобождением п-нитроанилина. Оптическую плотность измеряли при 405 нм в планшетном спектрофотометре. Калибровочную кривую строили с использованием международного стандарта активатора прекалликреина BRP в диапазоне концентраций от 1,56 до 50 МЕ/мл [3].

Каждый показатель определяли в трёх независимых повторах. Для оценки внутрисерийной воспроизводимости рассчитывали среднее арифметическое значение, стандартное отклонение и 95 % доверительный интервал с использованием t-критерия Стьюдента для двух степеней свободы ($t = 4{,}303$).

Результаты и обсуждение. Индивидуальные значения трёх повторов, средние величины и доверительные интервалы приведены в таблице.

Таблица – Результаты определения антикомплементарной активности и активатора прекалликреина

Номер повтора	Антикомплементарная активность, %	Активатор прекалликреина, МЕ/мл
1	23,4	24,8
2	21,9	25,3
3	24,2	23,9
Среднее ± SD	23,2 ± 1,2	24,7 ± 0,7
95 % ДИ	20,2 – 26,2	22,9 – 26,4
Норматив	≤ 50	≤ 35

Антикомплементарная активность в исследованной серии составила в среднем 23,2 % с доверительным интервалом от 20,2 % до 26,2 %. Эти значения почти вдвое ниже предельно допустимого уровня 50 %, регламентированного фармакопеей для лекарственных средств с концентрацией белка 50 мг/мл [2, с. 513; 4, с. 98].

Содержание активатора прекалликреина находилось в диапазоне от 23,9 до 25,3 МЕ/мл, среднее значение составило 24,7 МЕ/мл (95 % ДИ: 22,9 – 26,4 МЕ/мл). Нормативный порог 35 МЕ/мл не превышен ни в одном из повторов, причём фактический уровень примерно на 30 % ниже критического. Подобные значения характерны для лекарственных средств, полученных с применением современного метода нанофильтрации, обеспечивающего удаление высокомолекулярных примесей, включая фактор XIIa и его фрагменты [5, с. 7].

Стандартные отклонения в серии повторов не превышали 1,2 % для антикомплементарной активности и 0,7 МЕ/мл для активатора прекалликреина, что указывает на удовлетворительную внутрилабораторную сходимость методик. Критерии пригодности системы (положительный контроль BRP в заявленных пределах, линейность калибровочной зависимости с $R^2 \geq 0{,}990$) были соблюдены во всех аналитических сериях.

Заключение. Исследованная серия лекарственного средства «Иммуноглобулин человека нормальный pH 4,0» полностью соответствует требованиям Государственной фармакопеи и Европейской фармакопеи по показателям «Антикомплементарная активность» и «Активатор прекалликреина».

Список использованных источников

1. Карякин, А. В. Сравнение требований Государственной фармакопеи XIII издания и Европейской фармакопеи к препаратам из плазмы крови человека / А. В. Карякин, Е. Д. Скоцеляс // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2016. – № 2. – С. 50–52.

2. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV изд. – Т. 2 : ОФС.1.8.2.0006.15 Антикомплементарная активность. – М., 2018.

3. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV изд. – Т. 2 : ОФС.1.8.2.0007.15 Активатор прекалликреина. – М., 2018.

4. Корнилова, О. Г. Стандартные образцы в оценке специфической безопасности препаратов иммуноглобулинов и альбумина человека: особенности разработки, аттестации и применения / О. Г. Корнилова, М. А. Кривых, Р. А. Волкова, И. В. Борисевич // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2021. – Т. 21, № 2. – С. 94–105.

5. Карпенко, Ф. Н. Биотехнологическая продукция службы крови Республики Беларусь / Ф. Н. Карпенко // Биотехнологии в трансфузиологии: от производства до пациента : материалы республиканской научно-практической конференции, Минск, 19–20 ноября 2025 г. – Минск : РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, 2025. – С. 8–12.